

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



Mgr. et Mgr. Klára Maratová

Vliv sérových hladin 25-hydroxycholecalciferolu na muskuloskeletální systém u dětí se zánětlivým střevním onemocněním

The effect of serum 25-hydroxycholecalciferol levels on musculoskeletal system in children with inflammatory bowel disease

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: prof. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.

Konzultant: doc. MUDr. Ondřej Souček, Ph.D.

Praha 2020

Prohlášení:

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

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

V Praze 16.3.2020

Klára Maratová

Podpis

Identifikační záznam

MARATOVÁ, Klára. *Vliv sérových hladin 25-hydroxycholecalciferolu na muskuloskeletální systém u dětí se zánětlivým střevním onemocněním. [The effect of serum 25-hydroxycholecalciferol levels on musculoskeletal system in children with inflammatory bowel disease]*. Praha, 2020. 101 s. Disertační práce. Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, Pediatrická klinika.

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: prof. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří v první řadě mému školiteli prof. MUDr. Zdeňku Šumníkovi, Ph.D., který mně ukázal, jak vypadá správný vědecký výzkum a vše, co k němu patří. Poděkovat bych chtěla zejména za trpělivé vedení a ochotu pomoci v každém aspektu mého postgraduálního studia.

Ráda bych rovněž poděkovala svému konzultantovi doc. MUDr. Ondřeji Součkovi, Ph.D., za uvedení do problematiky klinické denzitometrie a poskytnutí pomocné ruky kdykoliv bylo třeba.

Děkuji též všem spolupracovníkům z Gastroenterologického oddělení Pediatrické kliniky Fakultní nemocnice Motol, zejména doc. MUDr. Ondřeji Hradskému, Ph.D. a MUDr. Ivaně Čopové za neocenitelnou pomoc při statistické analýze dat.

Ráda bych tímto také poděkovala své rodině za trpělivost a nikdy nekončící podporu, která mi umožnila se tomuto výzkumu věnovat.

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PEVNOST KOSTI.....	3
3. OSTEOPORÓZA A JEJÍ DIAGNOSTIKA V DĚTSTVÍ A ADOLESCENCI. 5	5
4. VITAMIN D A JEHO ROLE V ORGANISMU.....	10
5. ZÁNĚTLIVÁ STŘEVNÍ ONEMOCNĚNÍ.....	13
5.1. INCIDENCE	14
5.2. ETIOPATOGENEZE	16
5.3. KOSTNÍ DENZITA, GEOMETRIE A PEVNOST KOSTI U IBD	19
5.4. SVALOVÉ FUNKCE U IBD	20
5.5. VITAMIN D U DĚTÍ A ADOLESCENTŮ S IBD	22
6. DIABETES 1. TYPU	23
6.1. KOSTNÍ DENZITA, GEOMETRIE A PEVNOST KOSTI U OSOB S DIABETEM 1. TYPU..	24
6.2. SVALOVÉ FUNKCE U PACIENTŮ S DIABETEM 1. TYPU.....	26
7. HYPOTÉZA A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	28
7.1. STUDIE 1 - IBD	28
7.2. STUDIE 2 - DM1	29
8. METODIKA	30
8.1. STUDIE 1 – IBD.....	30
8.1.1. <i>Pacienti a design studie</i>	<i>30</i>
8.1.2. <i>Stanovení aktivity onemocnění a sledované biochemické parametry</i>	<i>33</i>
8.1.3. <i>Statistická analýza</i>	<i>33</i>
8.2. STUDIE 2 - DM1	35
8.2.1. <i>Pacienti a design studie</i>	<i>35</i>
8.2.2. <i>Statistická analýza</i>	<i>36</i>
8.3. METODIKA MĚŘENÍ	36
8.3.1. <i>Antropometrické parametry.....</i>	<i>36</i>
8.3.2. <i>Kostní denzita a geometrie kosti.....</i>	<i>36</i>
8.3.3. <i>Svalové funkce.....</i>	<i>38</i>
8.3.4. <i>Stanovení prevalence fraktur a hodnocení vertebrálních fraktur.....</i>	<i>40</i>
9. VÝSLEDKY	42
9.1. STUDIE 1 - IBD - PRŮŘEZOVÁ STUDIE	42
9.1.1. <i>Klinická a biochemická charakteristika kohorty pacientů</i>	<i>42</i>
9.1.2. <i>Pevnost a geometrie kosti</i>	<i>44</i>
9.1.3. <i>Dynamické svalové funkce</i>	<i>45</i>
9.1.4. <i>Prediktory svalových funkcí a kostní denzity.....</i>	<i>48</i>
9.1.5. <i>Prevalence asymptomatických vertebrálních fraktur a fraktur dlouhých kostí</i>	<i>48</i>

9.2.	STUDIE 1 - IBD - LONGITUDINÁLNÍ STUDIE.....	49
9.2.1.	<i>Klinická a biochemická charakteristika kohorty pacientů</i>	49
9.2.2.	<i>Pevnost a geometrie kosti</i>	52
9.2.3.	<i>Svalové funkce</i>	53
9.2.4.	<i>Prediktory dynamických svalových funkcí a kvality kosti</i>	55
9.3.	STUDIE 2 - DM1	57
9.3.1.	<i>Klinická a biochemická charakteristika kohorty pacientů</i>	57
9.3.2.	<i>Pevnost a geometrie kosti</i>	60
9.3.3.	<i>Dynamické svalové funkce</i>	61
9.3.4.	<i>Asociace mezi biochemickými a denzitometrickými a mechanografickými parametry</i>	64
10.	DISKUSE	65
10.1.	MUSKULOSKELETÁLNÍ SYSTÉM U PACIENTŮ S IBD	65
10.2.	MUSKULOSKELETÁLNÍ SYSTÉM U PACIENTŮ S DM1.....	69
11.	ZÁVĚR	73
12.	SOUHRN	74
13.	SUMMARY	74
14.	SEZNAM LITERATURY	75
15.	SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA	93
15.1.	PUBLIKACE <i>IN EXTENSO</i> , KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTACE	93
15.1.1.	<i>S impact factorem</i>	93
15.1.2.	<i>Bez impact factoru</i>	93
15.2.	PUBLIKACE <i>IN EXTENSO</i> S ČÁSTEČNÝM NEBO BEZ VZTAHU K TÉMATU DISERTACE	94
15.2.1.	<i>S impact factorem</i>	94
15.2.2.	<i>Bez impact factoru</i>	94

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

25-OHD	25-hydroxycholekalCIFerol
ALP	alkalická fosfatáza
BMC	bone mineral content
BMD	bone mass density
CD	Crohnova choroba
CRP	C-reaktivní protein
CTX	C-terminální telopeptid kolagenu typu I.
DM1	diabetes 1. typu
DPN	diabetická polyneuropatie
DXA	duální rentgenová absorbometrie
ESR	sedimentace erytrocytů
F-kalprotektin	fekální kalprotektin
GWAS	genome wide association study
IBD	inflammatory bowel disease
M1LH	multiple one-legged hopping
PBM	peak bone mass
PCDAI	pediatric Crohn's disease activity index
pQCT	periferní kvantitativní počítačová tomografie
PTH	parathormon
PUCAI	pediatric ulcerative colitis activity index
S2LJ	single two-legged jump
UC	ulcerózní kolitida
VF	vertebrální fraktura

1. ÚVOD

Skelet zaujímá zhruba 15 až 20 % z celkové hmotnosti těla. Představuje metabolicky vysoce aktivní tkáň, která se v průběhu celého života neustále obměňuje a přestavuje. Jedná se o složitý proces, který je zprostředkován dvěma základními navzájem zpřaženými fyziologickými principy, a to kostní formací mediovanou činností osteoblastů a kostní resorpcí zajištěnou osteoklasty (Parfitt 1994). Zásadní periodu kostního vývoje představuje dětství a adolescence, kdy kostní novotvorba převažuje nad resorpcí. V tomto období dochází jednak k růstu kosti do délky z epifyzeárních růstových plotének a jednak do šířky procesem periostální apozice. Zároveň prochází veškerá kostní tkáň neustálou obměnou, remodelací (Parfitt 1994). Pevnost kosti ovlivňuje celá řada vnitřních a vnějších faktorů, nejdůležitější z nich jsou pohlaví, genetická predispozice nebo nutriční, metabolické a endokrinní faktory. Zásadní vliv na pevnost kosti má mechanická zátěž na ni kladená. Princip působení mechanické zátěže mediované kontrakcemi kosterního svalstva navrhl americký ortoped Harold Frost ve své teorii mechanostatu (Frost 1987).

Snížená kostní denzita (BMD) a osteoporóza představují významnou sekundární komplikaci chronických onemocnění u dětí a adolescentů. Narušení kostního metabolismu vedoucí ke snížení pevnosti kosti může mít vzhledem k etiologické heterogenitě chronických onemocnění různé příčiny, obecně však platí, že ke zhoršení pevnosti kosti dochází v důsledku základního onemocnění (chronickým zánětem, malabsorpcí, imobilitou) (Harris et al. 2009; Larson & Henderson 2000) a z části jeho léčbou (Abraham et al. 2014). Typickým příkladem může být osteoporóza u zánětlivých střevních onemocnění (IBD), kde aktivace kostní resorpce může být zprostředkována zvýšenou koncentrací pro-zánětlivých cytokinů (Harris et al. 2009) jako je TNF- α , IL-1 a IL-6, které tlumí diferenciaci osteoblastů, syntézu kolagenu a podporují osteoklastogenezi, nebo kortikosteroidní terapií, která podporuje kostní resorpci indukcí apoptózy osteocytů a osteoblastů. Mezi potenciální rizikové faktory rozvoje osteoporózy u IBD patří deficit vitamínu D. Zda, a do jaké míry ovlivňuje jeho nedostatek BMD u IBD, je stále předmětem diskuze. Dle některých hypotéz by se mohl nedostatek vitamínu D také podílet na etiopatogenezi IBD (El-Matary et al. 2011;

Marco et al. 2015), stejně jako jiných imunopatologií, nicméně důkazy potvrzující tyto hypotézy nejsou doposud k dispozici

Primárním cílem této práce proto bylo zhodnotit parametry kostní denzity, geometrie kosti a dynamické svalové funkce u dětí a adolescentů se dvěma chronickými onemocněními - IBD a diabetem 1. typu (DM1). Analyzován byl zejména možný vliv deficitu vitamínu D, trvání a kompenzace onemocnění a snížených svalových funkcí na BMD a geometrii kosti. Dalším cílem bylo stanovit klinické nebo laboratorní prediktory svalových a denzitometrických parametrů u dětí s uvedenými chorobami.

2. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PEVNOST KOSTI

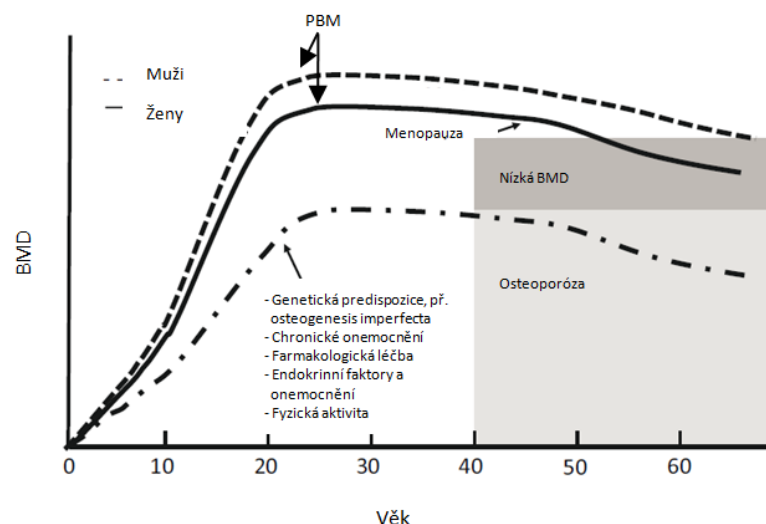
Maximálních hodnot BMD, tzv. peak bone mass (PBM), dosahuje člověk ve třetí dekádě života (obrázek 1) (Chang et al. 2017). Koncept PBM vychází z předpokladu, že hlavními determinanty fragility kostí v pozdějším věku je maximální dosažená hodnota BMD a rychlost kostní resorpce v dospělosti (Zemel 2013). Tento předpoklad lze ilustrovat na matematickém modelu, dle kterého by při zvýšení BMD v době PBM o 10 % došlo k oddálení rozvoje osteoporózy v seniu až o 13 let (Hernandez et al. 2003). Vztah PBM – osteoporóza a tedy i zvýšené riziko fraktur v dospělosti však zřejmě není tak přímočarý, jak by se z výše uvedeného matematického modelu zdálo. Samotné BMC (bone mineral content), resp. BMD totiž predikuje výskyt fraktur ve všech věkových skupinách, zejména pak u jedinců mladších 50 let a u dětí, ve velmi omezené míře (Schonau 2004).

Mezi nejdůležitější faktory určující pevnost kosti patří její velikost, charakter kostní tkáně a její prostorové uspořádání (Martin 1991). Na základě mechanických stimulů je kost funkčně adaptována za účelem zajištění své stability (Frost 1987). Mezi nejvýznamnější mechanické stimuly zvyšování kostní pevnosti patří kontrakce kosterního svalstva (Robling et al. 2006), které na jedné straně podporují činnost a proliferaci osteoblastů deformací intraoseálního prostoru, na straně druhé inhibují resorpci kostní tkáně inhibicí činnosti osteoklastů. Insuficientní svalové kontrakce vedou díky nedostatečné stimulaci intraoseálního prostoru k apoptóze osteocytů a následné zvýšené resorpci kosti (Hughes & Petit 2010). Těsné propojení mezi svalem a kostí je dobře patrné na jedincích trpících nervosvalovým onemocněním, jako je například Duchennova muskulární dystrofie, pro kterou je typická snížená BMD a častý výskyt fraktur (Larson & Henderson 2000).

Asociaci mezi mechanickou zátěží vyvolanou činností kosterního svalstva a BMD nebo BMC lze dobře ilustrovat na studiích zaměřených na jedince s intenzivní fyzickou zátěží. Meta-analýza zaměřená na vztah mezi posilováním a denzitometrickými parametry u dívek prokázala pozitivní asociaci (Ishikawa et al. 2013), podobně studie u tenistů popsala vyšší přírůstek BMC zejména na kostech vystavených zvýšené zátěži, tedy na dominantním humeru (Bass et al. 2002). Roli zde nehraje pouze sportovní zátěž jako kategorie, ale zejména její druh a věk, kdy ke zvýšené zátěži dochází. Zatímco

prepubertálně dochází u sportujících dětí ke zvýšení periostální apozy a tedy velikosti kosti do šířky, což vede k větší odolnosti vůči ohybu, postpubertálně je zvýšený přírůstek kostní tkáně patrný pouze na endostálním povrchu, tedy bez většího významu na celkovou pevnost kosti (Bass et al. 2002). Význam druhu sportovní aktivity dobře ilustruje studie, která prokázala vyšší přírůstek BMC i BMD u sportovních gymnastek v porovnání s dívkami věnujícími se kopané, basketbalu nebo tenisu (Laing et al. 2002). Longitudinální studie ukazují, že vyšší BMD dosažená v dětství u sportovních gymnastek přetrvává i v dospělém věku, tedy i po ukončení sportovní aktivity (Erlandson et al. 2017). Výsledky těchto výzkumů tedy naznačují, že vyšší fyzická aktivita v dětství se skutečně může podílet na snížení rizika vzniku fraktur v pozdějším věku, nicméně pouze tehdy, stane-li se fyzická aktivita pravidelnou součástí životního stylu po ukončení aktivní sportovní kariéry.

Na pohlavně specifických rozdílech v geometrii a tedy i pevnosti kosti, které můžeme pozorovat v dospělosti, může mít podíl prodloužená skeletální maturace chlapců vedoucí k větší velikosti kosti a zvýšené šíři kortikální kosti. Bylo prokázáno, že 20 – 35 % z celkového množství kostního minerálu je akumulováno v období puberty (Högler et al. 2008). Po nástupu menarche navíc dochází k významnému zpomalení přírůstku kostní hmoty a 2 roky po menarche již není přírůstek významný (Bonjour et al. 2009). Z tohoto důvodu je nástup a průběh puberty faktorem ovlivňujícím dosažený PBM. Opoždění puberty je spojováno s nižším PBM - vyšší BMD a nižší riziko vzniku fraktury krčku femuru v dospělosti bylo zaznamenáno u žen s dřívějším menarche v porovnání s ženami s pozdějším menarche (Chang et al. 2017; Johnell et al. 1995). Rovněž v prospektivní studii provedené na zdravých dívkách s normální sexuální maturací byla popsána asociace mezi BMD a menarcheálním věkem (Chevalley et al. 2005). Z klinického hlediska tento poznatek nabývá na významu zejména u onemocnění, která mohou ovlivňovat časování puberty, mezi které patří např. IBD (Ballinger et al. 2003).



Obrázek 1 Vývoj BMD v průběhu života. Upraveno podle (Weaver et al. 2016; Maggioli & Stagi 2017).

3. OSTEOPORÓZA A JEJÍ DIAGNOSTIKA V DĚTSTVÍ A ADOLESCENCI

Diagnostika osteoporózy vychází z definice Světové zdravotnické organizace, která osteoporózu označuje jako systémové metabolické onemocnění skeletu, charakterizované nízkou kostní denzitou a narušením mikroarchitektury kostní tkáně, vedoucí k poruše mechanické odolnosti kosti a zvýšenému riziku zlomenin (Alexeeva et al. 1994). Na rozdíl od dospělé populace je diagnostika osteoporózy v dětském věku poněkud složitější, diagnóza u dětí vychází z doporučení Mezinárodní společnosti klinické denzitometrie (ISCD - *International Society for Clinical Densitometry*) z roku 2019 (Shuhart et al. 2019). Osteoporóza v dětském věku by měla být stanovena jednak na základě nízké hodnoty BMD (Z -skóre ≤ -2 ; Z -skóre uvádí odchylku hodnoty BMD vyšetřovaného pacienta od zdravé kontroly stejného pohlaví a věku) a zároveň na základě pozitivní anamnézy klinicky významných fraktur. Za klinicky významnou frakturu je považována kompresní fraktura obratle nebo 2 a více fraktur dlouhých kostí do 10 let, popřípadě 3 a více fraktur dlouhých kostí do 19 let (tabulka 1). Pro stanovení diagnózy je rovněž nezbytné zohlednit, zda je mechanismus úrazu adekvátní vzniku fraktury.

Tabulka 1 Diagnostická kritéria osteoporózy u dětí a adolescentů na základě doporučení Mezinárodní společnosti klinické denzitometrie (Shuhart et al. 2019)

Nález 1 a více kompresivních vertebrálních fraktur, které nejsou výsledkem vysoce-energetického traumatu. Hodnocení BMD v tomto případě může přispět k celkovému obrazu o stavu skeletu *nebo*

Nízká kostní denzita definovaná jako Z-skóre pro BMC nebo BMD $\leq -2,0$ po adjustaci na pohlaví, věk a tělesnou výšku *a zároveň*

Pozitivní anamnéza klinicky významných fraktur:

Anamnéza 2 a více fraktur dlouhých kostí do 10 let *nebo*

Anamnéza 3 a více fraktur dlouhých kostí do 19 let

Existuje celá řada metod využívaných ke stanovení BMD (viz tabulka 2), celosvětově nejpoužívanější metodu k hodnocení kostní denzity představuje duální rentgenová absorpometrie (DXA), která k hodnocení BMD využívá při průchodu tkáně změnu intenzity záření dvou paprsků o různé energetické hladině (Blake & Fogelman 2007). Změny v intenzitě procházejících paprsků jsou vyjádřeny jako tzv. plošná BMD, která vyjadřuje obsah kostního minerálu na jednotce plochy (g/cm^2) (Lewiecki et al. 2019). BMD je hodnocena nejčastěji na lumbální páteři (v oblasti $L_1 - L_4$) nebo na krčku fermuru. V případě jedinců, u kterých nelze „klasickou“ DXA provést, např. pro skoliózu nebo lokální osteoporózu, lze použít periferní DXA, jež hodnotí periferní oblasti skeletu, jako je radius nebo calcaneus (Lewiecki et al. 2019). Prostřednictvím DXA lze provést i celotělový sken, který se využívá zejména ke stanovení tělesného složení (dokáže rozlišit 3 základní tělesné komponenty: tuk, skelet a svalstvo).

DXA a tedy plošná BMD je ze své podstaty dvou-rozměrnou metodou, její nevýhodou je proto nemožnost rozlišovat mezi jednotlivými kompartmenty kosti, tedy kortikální a trabekulární denzitou, a hodnotit BMD ve 3D prostoru. Nález nízké BMD při vyšetření metodou DXA může mít několik příčin. Může: a) se skutečně jednat o osteoporózu nebo b) jít o demineralizaci kostní tkáně, popř. c) být BMD normální (Šumník & Souček 2012). Příčinou falešně nízké BMD zjištěné DXA může být zejména malý vzrůst dítěte, protože tato metoda nebere v úvahu velikost měřeného objektu (délku kosti) ani tělesnou výšku. To může představovat problém u pacientů s malým nebo naopak velkým vzrůstem. U dětí s poruchou růstu tak může lehce dojít k falešně

nízkým hodnotám BMD a diagnóze osteoporózy. Výsledky je proto třeba u pacientů na tělesnou výšku dodatečně adjustovat (Wren et al. 2005).

Další nevýhodou metody DXA jsou rozdíly ve výsledcích naměřené plošné BMD mezi jednotlivými výrobci. Lewiński et al. (2019) tyto rozdíly přičítá použití odlišného softwaru a referenčních populací, přestože výpočet odchylek BMD je v souladu s doporučeními ISCD.

Alternativní metodu, kterou lze použít k hodnocení kostní denzity, představuje periferní kvantitativní počítačová tomografie (pQCT). Výhodou této metody oproti DXA je měření volumetrické kostní denzity (g/cm^3), která nám říká o jejím skutečném rozložení v prostoru a není tedy ovlivněna velikostí kosti. Další výhodou pQCT je schopnost rozlišovat mezi trabekulární a kortikální BMD, možnost popsat geometrické parametry kosti jako je šíře kortikální kosti a v neposlední řadě také schopnost vypočítat indexy pevnosti kosti, k jejichž výpočtu se využívají znalosti z materiálové fyziky (Cointry et al. 2014). Nevýhodou pQCT ve srovnání s DXA je jeho omezená dostupnost a schopnost měření pouze apendikulárního skeletu. Nejčastěji je vyšetřována oblast radia nebo tibie, lze však změřit i BMD humeru nebo femuru. Celotělový sken, sken lumbální páteře (oblast L_1 a L_2) nebo krčku femuru lze provést pouze za použití kvantitativní počítačové tomografie (QCT), která je však provázena ve srovnání s pQCT vysokou radiační zátěží (pQCT 0,22 vs. QCT 200 až 370 μSv) a proto se zejména u dětí nepoužívá.

K měření volumetrické BMD (mg/cm^3) se v současné době, zejména pro výzkumné účely, používá také Hr-pQCT (high resolution pQCT), jehož prostřednictvím lze rovněž zmapovat mikroarchitekturu kosti. Vysoké rozlišení těchto přístrojů (velikost měřeného voxelu je u Hr-pQCT 61 μm vs. pQCT 0,4 mm) je však spojeno s vyšší radiační zátěží (3 – 5 μSv) (Nishiyama et al. 2019).

Tabulka 2 Porovnání metod nejčastěji užívaných k posouzení kostní denzity v dětském věku, převzato z (Šumník & Souček 2012).

	DXA	pQCT
Nejčastěji vyšetřované místo	Páteř Celé tělo Krček femuru	Radius Tibie
Hodnocené parametry	Plošná kostní denzita (aBMD) Obsah kostního minerálu (BMC)	Volumetrická BMD (vBMD) Geometrie kosti BMC Indexy kostní pevnosti
Efektivní radiační dávka	1,4–13 μ Sv	Obvykle < 1,5 μ Sv
Výhody	Minimální radiační zátěž Krátká doba vyšetření Vyšetření lumbální páteře	Stanovuje vBMD Diferencuje kortikální a trabekulární kost Geometrické vlastnosti kosti
Nevýhody	Neumí rozlišit kortikální a trabekulární kost ani geometrii kosti Výsledky ovlivněny výškou postavy	Chybí longitudinální studie pro stanovení rizika fraktur Nestanovuje kostní denzitu na páteři

Vzhledem k úzké provázanosti muskulo-skeletálního systému je pro hodnocení etiopatogeneze snížené BMD, resp. osteoporózy zásadní analýza nejen kostní denzity, ale také svalového systému. Jejich komplexní hodnocení tak umožňuje odlišit osteoporózu primární od sekundární¹ (Anliker et al. 2011). K hodnocení svalových funkcí lze použít řadu metod, od zobrazovacích po dynamické. Zobrazovací metody jako je DXA nebo pQCT umožňují neinvazivní hodnocení velikosti svalu (Erlandson et al. 2016). Výhodou těchto metod je jejich nenáročnost, nejsou totiž vázány na schopnost vyšetřovaného pacienta vykonat určitý pohyb nebo zejména u dětí na ochotu spolupracovat (tedy jejich náladu a motivaci). K aproximaci svalové síly jsou využívány parametry jako je plocha svalu (muscle cross-sectional area) nebo jeho velikost (muscle mass). Přestože byla prokázána korelace mezi plochou svalu (měřeno pomocí magnetické resonance) a svalovou silou měřenou pomocí isokinetického dynamometru u fotbalistů ve věku 19 až 22 let (Masuda et al. 2003) nebo plochou svalu u zdravých dětí a obsahem kostního minerálu (Schoenau et al. 2002), nelze říci, že „větší“ sval je

¹ Primární osteoporóza u dětí je definována jako úbytek kostní tkáně asociovaný s pozitivní anamnézou klinicky významných fraktur, typickým příkladem je osteogenesis imperfecta. Sekundární osteoporóza naopak vzniká v důsledku základního onemocnění, jako jsou např. neuromuskulární nebo některé endokrinní poruchy, a/nebo jeho léčbou (Ward et al. 2016).

nezbytně „silnější“. Anliker a Toigo (2012) ve své práci rozvádějí řadu faktorů, které mohou svalovou sílu ovlivnit nezávisle na jeho velikosti, jedná se např. o aktivitu motorických jednotek, typ svalových vláken nebo svalovou hypertrofií. Vliv svalové hypertrofie je možno demonstrovat na příkladu pacientů s Duchenovou muskulární dystrofií, u kterých je často pozorována hypertrofie svalů bérce. Příčinou tohoto nárůstu je však akumulace tukové a pojivové tkáně, nikoliv zvětšení svalových buněk (Jones et al. 1983) nebo síly (Ricotti et al. 2016). Další limitaci těchto metod představuje nemožnost vyšetření dynamických svalových funkcí jako je výkon nebo síla, které působí na skelet.

Mezi nejrozšířenější metodu hodnocení svalových funkcí patří ruční dynamometrie, jejímž výsledkem je hodnota izometrické síly stisku ruky (isometric grip strength, [N]). Přestože metodologicky není použití dynamometru náročné, může být např. postavení končetiny do odlišné polohy nebo lateralita měřené paže zdrojem diskrepancí. Pro využití v klinické praxi byla publikována řada pediatrických referenčních dat v závislosti jak na věku, tak na výšce měřeného jedince, Rauch et al. (2002) však argumentuje pro využití výškových normativů, protože svalový systém je adaptován na velikost těla nikoliv na věk jedince.

Limitaci pro hodnocení svalových funkcí prostřednictvím ruční dynamometrie představuje jednak vyšetření pouze určité skupiny svalů na horní končetině, ale také hodnocení isometrické kontrakce. Maximální svalová síla působící na skelet je totiž vyvinuta při prodlužování svalu v průběhu excentrické kontrakce (Anliker & Toigo 2012). Z výše uvedených důvodů je proto vhodnější pro vyšetření funkčního statutu svalového systému hodnocení svalových funkcí dolních končetin, tedy svalového okrsku, jehož funkce jsou významně ovlivněny tíhovou silou. Kinetické testy typu mechanografie (jumping mechanography) (Fricke et al. 2006) měří excentrickou svalovou kontrakci při dopadu na reakční podložku a díky možnosti hodnocení koordinace nebo rychlosti svalové kontrakce reflektují funkční status celého svalového systému (Rauch et al. 2002). Mechanograf je tvořen silovou plošinou zaznamenávající změny reakční síly, ke kterým dochází při kontaktu těla s podložkou. Velkou výhodou této metody v porovnání s ruční dynamometrií je využití celé škály jednoduchých, fyziologických a ničím neomezených pohybů, jako je například výskok nebo vzpřímení se ze sedu (Veilleux & Rauch 2010). Vzhledem k metodologické nenáročnosti, vysoké

spolehlivosti a reproducibilitě nabývá mechanografie na významu zejména u oslabených pacientů a v pediatrii (Veilleux & Rauch 2010; Buehring et al. 2014; Soucek et al. 2015; Sumnik et al. 2013). Ve srovnání s isometrickými metodami podává mechanografie rovněž přesnější informace o svalových funkcích a koordinaci (Fricke et al. 2006), navíc byla prokázána silná korelace mezi maximální svalovou silou a obsahem kostního minerálu v oblasti tibie hodnocené prostřednictvím pQCT a to jak u zdravých jedinců (Anliker et al. 2011), tak u dětí s chronickým onemocněním, např. dívek s Turnerovým syndromem (Soucek et al. 2015). Pomocí mechanografie je možno měřit různé parametry svalových funkcí, nejčastěji jsou měřeny maximální svalový výkon (P_{\max} , W) a síla (F_{\max} , N). Přesnější představu o stavu svalového systému však ve srovnání s absolutními hodnotami poskytují relativní parametry dynamických svalových funkcí, tedy parametry adjustované na tělesnou hmotnost.

4. VITAMIN D A JEHO ROLE V ORGANISMU

Pod pojmem vitamin D je označována skupina v tučích rozpustných látek rostlinného nebo živočišného původu, konkrétně ergokalciferol (D_2) a cholekalciferol (D_3). Hlavním zdrojem vitamínu D_3 je endogenní produkce v kůži při expozici 7-dehydrocholesterolu ultrafialovému (UV) záření o vlnové délce 290-320 nm a následné tepelné izomerizaci. Množství v kůži syntetizovaného vitamínu D_3 je závislé na dostupnosti 7-dehydrocholesterolu a na expozici UV záření (Holick et al. 1980). Syntéza vitamínu D v těle je proto ovlivňována environmentálními faktory jako je roční období, zeměpisná šířka nebo znečištění vzduchu, ale také individuálními a kulturními zvyklostmi, např. používáním opalovacích krémů nebo mírou zahalování tělesného povrchu. V případě dlouhodobé sluneční expozice je provitamin D_3 fotolyticky konvertován na tachysterol a lumisterol, inaktivní metabolity, které nemají vliv na kalciofosfátový metabolismus. Tento mechanismus chrání před intoxikací vitamínem D (Hossein-Nezhad & Holick 2013).

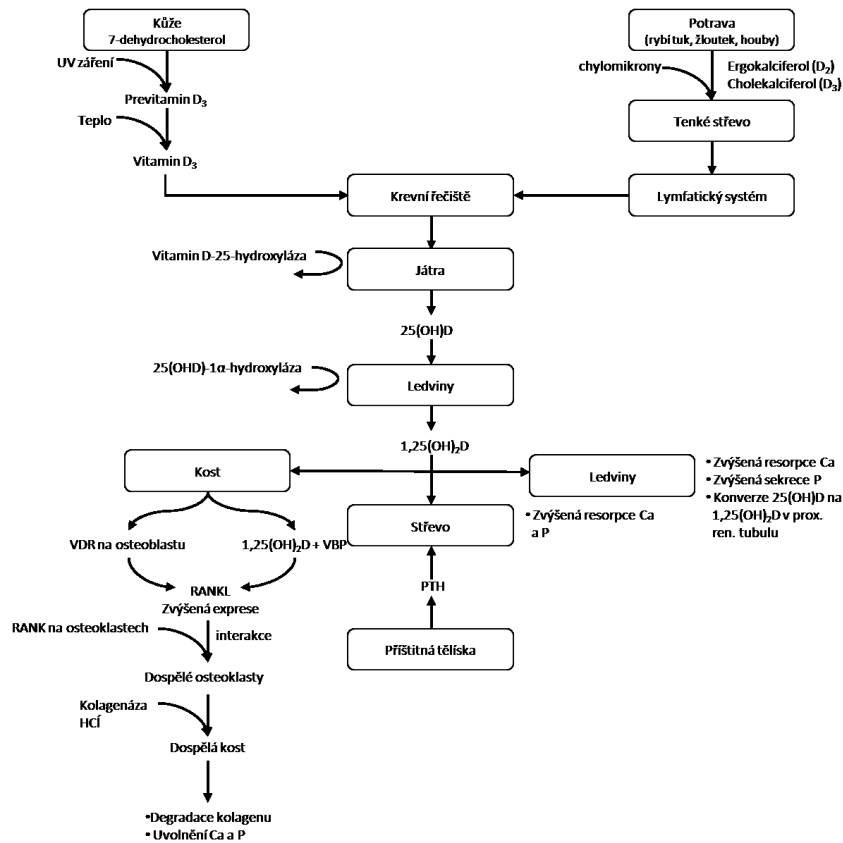
Po vstupu do krevního řečiště podléhá vitamin D dvoustupňové hydroxylaci. Vlivem enzymu 25-hydroxylázy dochází v játrech k přeměně na biologicky neaktivní 25-hydroxyvitamin D (kalcidiol, 25-OHD), který je poté převážně v ledvinách dále metabolizován 25(OH)D-1 α -hydroxylázou na aktivní formu vitamínu D - kalcitriol

(1,25-(OH)₂D). Aktivní i neaktivní forma vitamínu D může v malém množství cirkulovat v krvi volně (méně než 1 %) (Bikle et al. 1986). Většina (88 %) je však navázána na vitamin D-binding protein (VDBP) (Bikle et al. 1986), který usnadňuje jeho transport k cílovým tkáním, kde dochází k jeho uvolnění a interakci s intracelulárním receptorem pro vitamin D (VDR).

Hlavní funkcí kalcitriolu je udržování homeostázy Ca a P v krvi stimulací jejich absorpce v tenkém střevě. K reabsorpci Ca rovněž dochází v proximálních renálních tubulech, kde je stimulována především parathormonem (PTH), ale také kalcitriolem. V kostech spouští vazba vitamínu D na VDR osteoblastů kaskádu dějů, které vedou k osteoklastogenezi (Holick 2007).

Důležitou regulační funkci v metabolismu vitamínu D zaujímá PTH. Aktivita 1 α -hydroxylázy, enzymu zodpovědného za konverzi neaktivní formy vitamínu D na aktivní, je stimulována působením PTH. Naopak kalcitriol zpětnovazebně potlačuje aktivitu a produkci PTH inhibicí proliferace buněk příštítných tělísek a stimuluje expresi 24-hydroxylázy, která katalyzuje konverzi kalcitriolu a kalcidiolu na biologicky neaktivní, ve vodě rozpustné metabolity, které jsou vylučovány se žlučí (Makin et al. 1989). Účinky a metabolismus vitamínu D jsou shrnuty na obrázku 2.

VDR je přítomen ve většině tkání lidského organismu. Jeho přítomnost v makrofázích, T a B lymfocytech podporuje předpoklad významu vitamínu D pro imunitní systém (Pludowski et al. 2018). Experimentální studie skutečně prokázaly, že úplný deficit vitamínu D vede k imunopatologickým stavům (Ooi et al. 2013; Yuzefpolskiy et al. 2014). Úloha vitamínu D v etiopatogenezi, prevenci a terapii poruch imunity, ať už se jedná o autoimunitní choroby či imunodeficitní stavy, však nebyla dosud uspokojivě objasněna. Přestože jsou popisovány četné asociace mezi nízkou sérovou koncentrací vitamínu D a těmito chorobami, intervenční studie neprokazují preventivní efekt (Jorde et al. 2016; Rejnmark et al. 2017). V této souvislosti zůstává klíčovou a dosud nezodpovězenou otázkou, jaká je optimální tkáňová koncentrace vitamínu D, která je nutná pro zajištění extraskeletálních účinků vitamínu D a jak ji testovat. Zde totiž nelze použít níže uvedené referenční rozmezí, protože to bylo vytvořeno na základě koncentrace PTH, vychází tedy pouze z vlivu vitamínu D na kostní metabolismus.

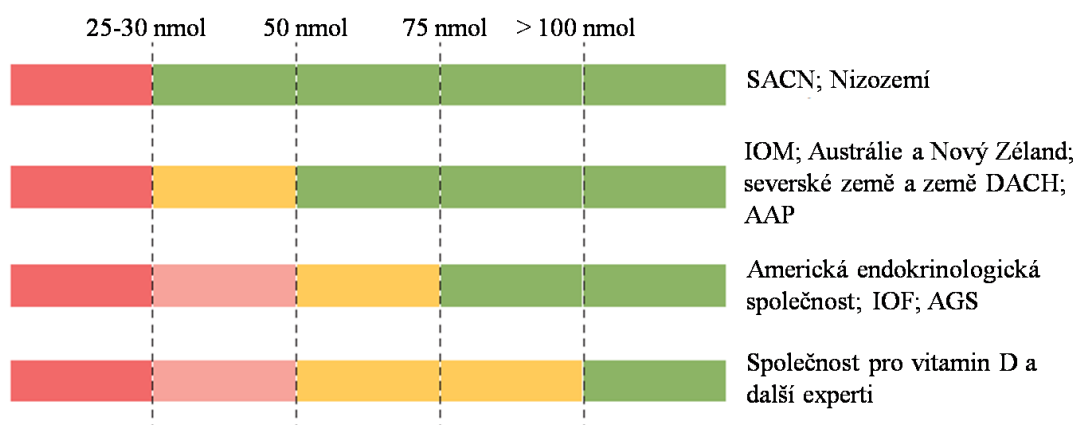


Obrázek 2 Účinky a metabolismus vitamínu D. Upraveno dle (Holick 2006).

Nasycení organismu vitamínem D je hodnoceno pomocí sérové koncentrace 25-OHD, který má v porovnání s 1,25-(OH)₂D relativně dlouhý poločas (2 – 3 týdny). Stanovování aktivní formy vitamínu D (1,25-(OH)₂D), jakožto markeru jeho příjmu se s výjimkou nefropatií nedoporučuje nejen pro jeho krátký poločas rozpadu (4 – 7 hodin), ale také proto, že je jeho sérová koncentrace významně ovlivňována dalšími faktory, jako je PTH (Braegger et al. 2013).

Jako nedostatek vitamínu D je nejčastěji označována hodnota sérové koncentrace 25-OHD <50 nmol/l (viz obrázek 3) (Munns et al. 2016; Ross et al. 2011; Braegger et al. 2013). Americká endokrinologická společnost je však ve svých doporučeních přísnější a stanovila dolní hranici suficiencie na 75 nmol/l (Holick et al. 2011). Zde je však nutno podotknout, že tato hodnota se stala předmětem kritiky ze strany amerického Institute of Medicine (IOM, dnes National Academy of Medicine), dle kterého neexistuje dostatek důkazů o přínosech dosažení sérové koncentrace 25-OHD >50 nmol/l pro zdraví jedince (Rosen et al. 2012). Obě výše uvedené hodnoty byly stanoveny na základě analýzy vlivu 25-OHD na markery kostního metabolismu, klíčový

je vztah mezi 25-OHD a PTH. Klinicky významný deficit vitamínu D vede po nějaké době k elevaci PTH. V klinické praxi často vidáme zcela asymptomatické pacienty s nízkými koncentracemi 25-OHD bez zvýšení PTH. Sérová koncentrace 25-OHD nad 30 nmol/l by měla být dostatečná k prevenci křivice u dětí a osteomalácie u dospělých (Bouillon 2017), k poklesu 1,25(OH)₂D a tedy i malabsorpci vápníku dochází až při velmi závažném deficitu 25-OHD (<11 nmol/l) (Need et al. 2008). K tomuto přístupu se připojila též Česká pediatrická společnost ve svém posledním doporučení (Bronský et al. 2019).



Obrázek 3 Doporučení pro interpretaci sérových koncentrací 25-OHD (Bouillon 2017). Schéma zobrazuje, jakým způsobem různé země a odborné společnosti interpretují sérové koncentrace vitamínu D. Červená představuje závažný deficit. Žlutá představuje stav mírného deficitu, zelená představuje skupinu s dostatečnou koncentrací vitamínu D, která by nebenefitovala z dodatečné suplementace.

AAP American Academy of Pediatrics; *AGS* American Geriatrics Society; *DACH* Deutschland, Austria nad Confoederatio Helvetica; *IOF* International Osteoporosis Foundation; *IOM* Institute of Medicine; *SACN* Scientific Advisory Committee on Nutrition.

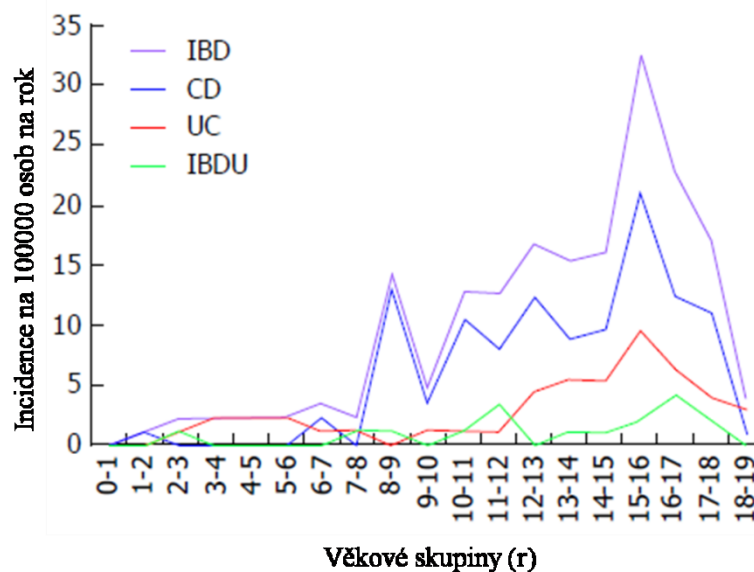
5. ZÁNĚTLIVÁ STŘEVNÍ ONEMOCNĚNÍ

Crohnova choroba (CD) a ulcerózní kolitida (UC) patří mezi zánětlivá střevní onemocnění (IBD) postihující sliznici gastrointestinálního traktu (Levine et al. 2014). Primárním cílem léčby je navození slizničního hojení a tak omezení rozvoje sekundárních komplikací jako je malnutrice, růstová retardace, opožděná puberta nebo osteoporóza (Turner et al. 2012).

5.1. Incidence

Incidence IBD v populaci celosvětově stoupá, a to jak v dospělé populaci, tak i u dětí (Sýkora et al. 2018). Tento vzestup je připisován především CD, u níž je nárůst nezpochybnitelný, nicméně incidence UC je dle většiny provedených studií rovněž na vzestupu, popřípadě zůstává nezměněna (Sýkora et al. 2018). V Evropě trpí IBD okolo 0,3 % populace, přičemž mezi jednotlivými státy jsou patrné významné rozdíly (Burisch et al. 2013). Mezi země s nejvyšší incidencí IBD v Evropě patří skandinávské země nebo Velká Británie (Burisch et al. 2013). Celosvětově vůbec nejvyšší incidence IBD (81,5 na 100 000 obyvatel a rok) byla zaznamenána na Faerských ostrovech, které politicky patří pod správu Dánského království (Burisch et al. 2014). Přesná příčina rozdílné incidence IBD mezi jednotlivými státy není známa. Často se však hovoří o tzv. severo-j jižním gradientu, kdy státy ležící více na sever mívají vyšší incidenci IBD ve srovnání s jižními státy (Logan & Bowlus 2010). Možným vysvětlením tohoto gradientu je vzdálenost od rovníku a tedy rozdíl v teplotě nebo expozici slunečnímu záření (Hradský 2017). Současně se také jako o možné příčině hovoří o rozdílu v ekonomické situaci jednotlivých států, tedy „bohatého severu a chudého jihu“. Asociaci mezi incidencí IBD a ekonomickým statusem jednotlivých států by podporoval i nárůst incidence IBD, který byl zaznamenán ve východní Evropě (Burisch et al. 2014). Nelze však vyloučit, že nárůst incidence patrný ve východní Evropě je možno alespoň částečně přičíst lepší diagnostice IBD (Hradský 2017).

V současné době je přibližně 25 % všech pacientů s IBD diagnostikováno již v průběhu dětství a adolescence. Nejčastěji k diagnóze dochází u dětí starších 10 let (77,1 %), přičemž největší počet nově diagnostikovaných pacientů v dětském věku je ve věkové skupině 15 let (obrázek 4). Počet diagnostikovaných pacientů před 10 rokem bývá výrazně nižší (17,6 %) a pouze 5,29 % pacientů je diagnostikováno před 6 rokem (Schwarz et al. 2017). Vzhledem k zaznamenanému vzestupu incidence IBD u dětí je zásadní otázkou, zda dochází k posunu rozvoje těchto onemocnění do mladšího věku. Závěry švýcarské studie naznačují, že přes významný nárůst incidence IBD k tomuto posunu v pediatrické populaci nedochází (Braegger et al. 2011).



Obrázek 4 Věkově specifická incidence všech nově diagnostikovaných IBD u dětí ve věku do 19 let v Plzeňském kraji mezi lety 2000 – 2015 (Schwarz et al. 2017). *IBD* inflammatory bowel disease, *CD* Crohnova choroba, *UC* ulcerózní kolitida, *IBDU* nespecifické IBD

Výsledky retrospektivní studie z let 1990 až 2001 mezi pacienty s CD ve věku do 15 let potvrzují nárůst incidence CD v České republice z 0,25 na 1,26/100 000/rok (Pozler et al. 2006). Vzhledem k retrospektivnímu charakteru studie je však možné, že část pacientů nebyla zachycena (Hradský 2017). Prospektivní studie z let 2000 až 2015 provedená na pediatrických pacientech v Plzeňském kraji pak zaznamenala ve věkové skupině do 15 let incidenci IBD 7,3/100 000/rok, CD 4,6/100 000/rok a UC 2,0/100 000/rok, tedy markantní nárůst. Při rozšíření věkové skupiny o pacienty až do 19 let pak došlo k dalšímu zvýšení incidence IBD na 10,0/100 000/rok. Podrobnější pohled ukázal vyšší incidenci CD ve srovnání s UC 6,2, resp. 2,8 /100 000/rok (Schwarz et al. 2017).

Ze studií provedených na české populaci lze s velkou pravděpodobností říci, že po roce 1989 došlo k nárůstu incidence IBD (Hradský 2017). Plzeňská studie naznačuje, že k pokračování tohoto trendu dochází. Minimálně ve věkové skupině do 19 let bylo pozorováno zvýšení incidence jak IBD, tak CD ($r = 0,32$, $p = 0,012$, resp. $r = 0,42$, $p < 0,0001$) (Schwarz et al. 2017).

5.2. Etiopatogeneze

Etiopatogeneze IBD dosud nebyla dostatečně objasněna. Jedná se však zřejmě o multifaktoriální proces, na kterém se podílí genetická predispozice jedince a jeho imunitní odpověď na vlivy vnějšího prostředí. Pomocí genomových asociačních studií (GWAS) se podařilo identifikovat 163 lokusů asociovaných s IBD, a tedy objasnit zhruba 13,6 % variability rizika vzniku CD a 7,5 % UC. To naznačuje, že k etiopatogenezi IBD významně přispívají i další faktory jako jsou faktory zevního prostředí nebo genetické varianty dosud nezachycené GWAS (Jostins et al. 2012). Výjimkou jsou pouze monogenně podmíněné typy IBD, jako je např. porucha v signální dráze pro IL-10 receptor, která způsobuje těžkou formu „early onset“ IBD (Kotlarz et al. 2012), kde faktory zevního prostředí nehrají prakticky žádnou roli.

Významnou roli v etiopatogenezi IBD hrají faktory zevního prostředí. Byla realizována celá řada studií zabývajících se vlivem různých environmentálních faktorů na vznik IBD. Mezi zkoumané faktory patří např. způsob porodu, kojení, stravovací návyky, fyzická aktivita, kouření, apendektomie nebo antibiotická léčba (Ungaro et al. 2014; Higuchi et al. 2012; Ananthakrishnan et al. 2013; Sonntag et al. 2007; Singhal et al. 2010). Výsledky těchto studií jsou velmi nejednotné.

V roce 1989 vyslovil jako možnou příčinu nárůstu prevalence atopických onemocnění Strachan hygienickou hypotézu, která říká, že abnormální odpověď imunitního systému způsobující alergie, astma a další autoimunitní onemocnění jsou výsledkem zlepšení osobní hygieny a snížení expozice patogenům mezi sourozenci ve velkých rodinách (Strachan 1989). Aplikace této hypotézy by do určité míry mohla vysvětlit nárůst incidence IBD v rozvojových zemích, které adoptovaly „západní“ životní styl (Kedia & Ahuja 2017). Vhodnou metodou pro posouzení interakce mezi genetickou a environmentální složkou v patogenezi IBD jsou migrační studie jedinců z rozvojových zemí. Kanadská studie srovnávající incidenci IBD mezi imigranty různých etnických skupin a původní kavkazskou populací prokázala u imigrantů nižší incidenci, zejména pak u jedinců pocházejících z oblastí východní Asie a Pacifiku, přičemž riziko rozvoje se snižovalo s věkem v době migrace (riziko IBD bylo nižší o 14 % s každou další dekádou života). Naopak děti imigrantů některých etnik již narozené v Kanadě vykazovaly stejnou pravděpodobnost rozvoje IBD jako děti původních obyvatel. To

naznačuje, že expozice určitým environmentálním stimulům může u geneticky predisponovaných jedinců některých etnik navodit rozvoj IBD (Benchimol et al. 2015). Výsledky studie Ko et al. (2015) ukazují, že různá etnika reagují na environmentální faktory různě. Zatímco u imigrantů do Austrálie ze Středního Východu např. antibiotická léčba snížila riziko CD (OR 0,27, 95 % CI, 0,11 – 0,67) i UC (OR 0,38, 95 % CI, 0,18 – 0,80) u kavkazské populace riziko CD i UC naopak zvýšila (OR 5,24, 95 % CI, 2,13 – 12,90, resp. OR 6,82, 95 % CI, 2,67 – 17,38). Pravdivost hygienické hypotézy tedy proto není v tuto chvíli možné potvrdit ani vyvrátit (Hradský 2017).

Velká pozornost je v současné době věnována lidskému mikrobiomu, jeho složení a změnám v důsledku environmentálních vlivů. Střevní mikroflóra je těsně spjata nejen s výživou a metabolismem, ale také s imunitním systémem a schopností jedince odolávat patogenům (Dethlefsen et al. 2008), její narušení či alterace (dysbióza) proto představuje jednu z možných příčin rozvoje IBD. V lidském zažívacím traktu se vyskytuje až 10^{14} mikrobiálních organismů včetně bakterií, virů, hub a prvoků (Honda & Littman 2012). Díky novým technologiím máme možnost nahlédnout do jeho složení. Více než 98 % lidského mikrobiomu je tvořeno čtyřmi základními kmeny, a to *Firmicutes* (49 %), *Bacteroidetes* (23 %), *Proteobacteria* (21 %) a *Actinobacteria* (5 %) (Frank et al. 2007). Počet a zastoupení jednotlivých kmenů se liší mezi jednotlivými částmi gastrointestinálního traktu, s nejnižším počtem v žaludku a začátku tenkého střeva (Sartor 2008). U zdravých jedinců mikrobiom nepodléhá velkým změnám a je poměrně stabilní (Matsuoka & Kanai 2015). Střevní mikrobiom pacientů s IBD se od zdravých jedinců liší, především v jeho diverzitě (Gevers et al. 2015; Frank et al. 2007). Řada studií prokázala redukci v zastoupení bakterií kmene *Firmicutes* (Andoh et al. 2008; Frank et al. 2007), a naopak větší množství bakterií kmene *Bacteroidetes* (Andoh et al. 2008). Hlubšímu zkoumání je třeba podrobit otázku, zda ke změnám v mikrobiomu pacientů s IBD dochází v důsledku zánětlivého procesu nebo zda tato změna přispívá k jeho vzniku. Výsledky studie na pacientech s UC ukazují, že ke změnám ve složení střevního mikrobiomu dochází i v oblastech zažívacího traktu jinak nepostíženého zánětem (Hirano et al. 2018), co více tato „nestabilita“ mikrobiomu byla prokázána nejen při zvýšené aktivitě onemocnění, ale i u pacientů v remisi (Martinez et al. 2008). Ke změnám ve střevním mikrobiomu může docházet také v důsledku IBD terapie (Kaakoush et al. 2015), výše zmiňované antibiotické léčby (Dethlefsen et al. 2008) nebo složení jídelníčku. Vlivem antibiotické léčby v dětství na pozdější rozvoj

IBD se zabývala řada studií. Dánská národní kohortová studie prokázala zvýšené riziko rozvoje IBD u dětí v minulosti léčených antibiotiky (RR 1,84, 95 % CI 1,08-3,15), tato asociace byla spojena primárně s rozvojem CD. Riziko rozvoje IBD bylo nejvyšší v prvních 3 měsících po léčbě (RR 2,39; 95 % CI 1,36 – 4,19). S každou další antibiotickou léčbou pak korespondovalo zvýšení pravděpodobnosti diagnózy IBD až o 12 %. Vyšší pravděpodobnost diagnózy IBD byla zaznamenána u pacientů přeléčených Penicilinem V nebo široko spektrálními antibiotiky (RR 2,92, resp. 3,13). Nejohroženější skupinu pak představují děti do 1 roku věku (Hviid et al. 2010).

Na podkladě dat z Manitoba Inflammatory Bowel Disease Epidemiologic Database se asociací mezi antibiotickou léčbou v prvním roce života a IBD zabývala také kanadská studie. Až 58 % dětí s IBD byla v prvním roce života předepsána antibiotika, ve srovnání se 39 % zdravých kontrol. Pravděpodobnost rozvoje IBD se dle výsledků této studie rovněž jeví závislá na dávce, pacienti s 2 - 4 nebo 5 a více předpisy měli pravděpodobnost IBD 2,9 (95% CI: 1,1 – 7,8), resp. 5,0 (95% CZ: 1,3 – 18,9) (Shaw et al. 2010)

Dalšími podrobně zkoumanými faktory, které by mohly přispívat k rozvoji IBD jsou kojení nebo složení jídelníčku v pozdějším věku. Kojení představuje v prvním roce života významný environmentální faktor působící na dítě, který nezpochybnitelně ovlivňuje imunitní systém (Agostoni et al. 2009). Otázkou však je, zda kojení, případně jeho délka působí protektivně proti rozvoji IBD v pozdějším věku. Výsledky studií zabývajících se touto problematikou jsou nejednotné. První studie věnující se této otázce nepotvrdily asociaci mezi kojením, jeho frekvencí a rozvojem IBD (Gilat et al. 1987; Sonntag et al. 2007). Naopak řada později provedených studií kojení jakožto protektivní faktor potvrdila (Lindoso et al. 2018; Ng et al. 2015). O tom, že složení jídelníčku ovlivňuje mikrobiom svědčí řada studií. Bylo prokázáno, že nasazení výlučné enterální výživy u dětských pacientů s CD vede k alteraci střevního mikrobiomu, která je spojena s navozením remise (Kaakoush et al. 2015), klinické remise je dosaženo až u 84 % pacientů s CD (Grover et al. 2014). Pro Evropu a Severní Ameriku je typická strava bohatá na cukry, tuky a červené maso, které mohou indukovat zánětlivé změny střevní sliznice (Agus et al. 2016). Naopak strava bohatá na vlákninu je asociována se sníženým rizikem rozvoje CD (Ananthakrishan et al. 2013).

5.3. Kostní denzita, geometrie a pevnost kostí u IBD

Etiopatogeneze skeletálních komplikací u pacientů s IBD je multifaktoriální povahy. Mezi hlavní faktory podílející se na nízkém přírůstku kostní hmoty patří vysoké hladiny prozánětlivých cytokinů, jako jsou například TNF- α , IL-1 β a IL-6 (Pappa et al. 2011), které podporují osteoklastogenezi. Dalším faktorem negativně ovlivňujícím skelet je kortikosteroidní terapie, v jejímž důsledku dochází k apoptóze osteoblastů a osteocytů (Weinstein et al. 1998). V neposlední řadě je také třeba zmínit malnutrici, nízkou fyzickou aktivitu nebo opožděnou pubertu, která bývá jednou z často popisovaných sekundárních komplikací u nedostatečně kompenzovaného IBD (Ballinger et al. 2003).

U jedinců s IBD byl zkoumán možný vliv sérové koncentrace vitamínu D v souvislosti se sníženou BMD. Výsledky dosud publikovaných prací jsou však nejednotné. U dětí se asociace mezi sérovou koncentrací vitamínu D a nízkou BMD nepotvrdila, a to jak u dlouhodobě léčených pacientů (Pappa et al. 2006; Laakso et al. 2014), tak u nově diagnostikovaných (El-Matary et al. 2011). Pappa et al. (2006) ve své studii sice zaznamenala deficit vitamínu D (< 37 nmol/l) u 34,6 % dětí, ale asociaci s BMD lumbální páteře neprokázala ($p = 0.58$). Naopak u nově diagnostikovaných dospělých pacientů BMD lumbální páteře ($r = 0,28$; $p < 0,01$), krčku femuru ($r = 0,21$; $p < 0,05$) a celého těla ($r = 0,21$; $p < 0,05$) pozitivně korelovala se sérovými koncentracemi 25-OHD (Leslie et al. 2008).

Prevalence snížené BMD u dětí a adolescentů s IBD se liší v závislosti na použité metodologii a kritériích pro výběr pacientů. Za účelem zhodnotit stav BMD u dětí a adolescentů s IBD byla provedena řada studií pomocí DXA (Tsampalieros et al. 2014; Laakso et al. 2014; Ward et al. 2010; Song et al. 2014) nebo pQCT, kdy byla BMD měřena buďto v oblasti radia (Bechtold et al. 2010) nebo tibie (Tsampalieros et al. 2014; Dubner et al. 2009; Griffin et al. 2015). Při použití pQCT byla u těchto pacientů popsána snížená trabekulární BMD (Z-skóre od $-0,4 \pm 1,3$ SD do $-1,46 \pm 1,3$ SD) (Bechtold et al. 2010; Dubner et al. 2009; Tsampalieros et al. 2014; Griffin et al. 2015), jedna ze studií však popsala normální kortikální denzitu ($0,03 \pm 1,05$ SD) (Dubner et al. 2009), a další zvýšenou BMD u nově diagnostikovaných pacientů s CD ($0,64 \pm 0,9$ SD) (Bechtold et al. 2010). Otázkou možné alterace geometrie kostí se zabývaly dvě studie (Bechtold et al. 2010; Griffin et al. 2015), které popsaly sníženou

celkovou a kortikální plochu kosti (Bechtold et al. 2010) a snížený periostální a zvýšený endoostální obvod (Griffin et al. 2015).

Výsledky poslední publikované metaanalýzy ukazují, že dospělí jedinci s IBD mají až o 38 % vyšší riziko vzniku fraktury, než zbytek populace (RR 1,38, 95 % CI 1,11 – 1,73). Zvýšené riziko fraktur bylo zejména na páteři (OR 2,26, 95 % CI 1,04 – 4,90) (Szafors et al. 2018). Informace o prevalenci klinicky významných fraktur v populaci dětských pacientů s IBD jsou v současné době omezené. Byly publikovány jednotlivé případy pacientů s pozitivní anamnézou vertebrálních fraktur (Wong et al. 2014; Cowan et al. 1995; Semeao et al. 1997; Lucarelli et al. 2006; Thearle et al. 2000), výsledky doposud největší epidemiologické studie věnující se této problematice zaznamenala pouze nesignifikantní trend ve smyslu zvýšeného rizika vzniku vertebrálních fraktur (OR 2,7, 95 % CI 0,8-10,8) u adolescentů s IBD ve srovnání se zdravou populací. Tento trend byl ještě výraznější u pacientů s CD (OR 5,4, 95 % CI 0,05 – 60,0) (Kappelman et al. 2011). Příčina zaznamenaných rozdílů mezi dospělou a dětskou populací není zcela jasná, podílet se však na ní může délka onemocnění, a tedy dlouhodobá expozice prozánětlivým cytokinům nebo také kortikosteroidní léčba. Byly však zaznamenány případy vertebrálních fraktur u pacientů ještě před zahájením léčby (Wong et al. 2014; Cowan et al. 1995)

5.4. Svalové funkce u IBD

Otázkou stavu svalového systému a svalové síly u dětských pacientů s IBD se za použití zobrazovacích metod, jako je pQCT nebo DXA, a dynamických metod, jako je ruční dynamometr, věnovalo několik studií. Studie využívající zobrazovacích metod k hodnocení muskuloskeletálního stavu dětí a adolescentů s IBD zaznamenaly deficit lean mass, a to zejména u pacientů s CD (Dubner et al. 2009; Thayu et al. 2010; Burnham et al. 2004; Burnham et al. 2005; Mager et al. 2018), u kterých bylo popsáno snížení svalové hmoty až o 6 % (Burnham et al. 2005). Zdá se, že tento deficit je významný zejména v době manifestace onemocnění (Mager et al. 2018; Bechtold et al. 2010; Dubner et al. 2009; Werkstetter et al. 2013), postupně však dochází k jeho zlepšení, které lze z části připsat zlepšení stavu výživy a snížení aktivity onemocnění (Werkstetter et al. 2013). Deficit lean mass byl však popsán i u dospělých jedinců (Van Langenberg et al. 2014). Jako možná příčina tohoto rozdílu mezi pacienty s IBD

a kontrolou se jevila nižší fyzická aktivita u jedinců s IBD, významný rozdíl v jejich fyzické aktivitě (Boot et al. 1998; Werkstetter et al. 2012) se však nepotvrdil.

Otázkou stavu svalového systému a svalové síly u dětských pacientů s IBD se za použití ručního dynamometru do současné doby zabývaly pouze tři studie (Bechtold et al. 2010; Werkstetter et al. 2012; Werkstetter et al. 2013). Bechtold et al. (2010) ve své studii zaznamenala významně sníženou isometrickou svalovou sílu stisku u pacientů s IBD ve srovnání s referenční populací (-0,63 +/- 1,3 SD), u pacientů s UC však došlo k významnému zlepšení s délkou trvání onemocnění ($p = 0,022$). Stejně tak Werkstetter et al. (2013) popsala snížené svalové funkce u nově diagnostikovaných pacientů s IBD (-1,73 SD, median range -2,84; 0,82, $p < 0,02$), po 12 týdnech výlučné parenterální výživy však i u nich byl zaznamenán trend ke zlepšení svalových funkcí o 0,74 SD (median range -0,99; 2,80, $p < 0,065$).

Etiopatogeneze snížených svalových funkcí u pacientů s IBD není dosud zcela objasněna. Roli v ní může hrát kromě malnutrice a kortikosteroidní terapie také – podobně jako v případě kostní denzity - probíhající zánětlivý proces. Zdá se, že spíše než zvýšenou degradací proteinů je ztráta svalové hmoty způsobena narušením proteosyntetické dráhy IGF-1/Akt (Van Langenberg et al. 2014). Se sníženou expresí pro-myogenního faktoru IGF-1 (Ahmed et al. 2007) a tedy narušením anabolické cesty GH/IGF-1 byla asociována zvýšená hladina prozánětlivého cytokinu IL-6, který byl v minulosti zaznamenán i u pacientů s IBD (Van Langenberg et al. 2014). Vliv na narušení svalových funkcí u pacientů s IBD může mít rovněž zvýšený oxidativní stres (Van Langenberg et al. 2014). Na snížených svalových funkcích se může spolupodílet též deficit vitamínu D často přítomný u pacientů s IBD.

In vitro studie prokázaly přítomnost receptoru pro vitamin D (VDR) nejen v kostní, ale i v dalších tělesných tkáních, například ve svalích (Simpson et al. 1985). Zda a do jaké míry ovlivňují sérové koncentrace vitamínu D svalové funkce, však není doposud zcela jasné. Je známo, že jedním z projevů významného deficitu vitamínu D je i svalová slabost, která se po suplementaci zlepšuje (Crocombe & Mughal 2004). Stejně tak experimentální modely na myších s defektivním VDR potvrzují svalovou slabost u těchto jedinců. Jedná se však o extrémní případy, u nichž je alterována i koncentrace vápníku a fosfátu v krvi (Gunton et al. 2015). Asociace mezi deficitem

vitaminu D (< 50 nmol/l) a zhoršeným svalovým výkonem byla potvrzena u jedinců starších 70 let (Wicherts et al. 2007), stejně tak byla popsána asociace mezi sérovou koncentrací 25-OHD a svalovou silou a výkonem u postmenarcheálních adolescentních dívek (Ward et al. 2009). Zde je však nutno podotknout, že randomizovaná kontrolovaná studie provedená na téže skupině dívek neprokázala zlepšení svalových funkcí po suplementaci vitaminem D (Ward et al. 2010).

V literatuře jsou diskutovány dva možné způsoby, kterými vitamin D interaguje kosterním svalstvem, konkrétně se jedná o genomický a nengenomický efekt – vitamin D může ovlivňovat expresi kontraktálních proteinů a expresi myogenních transkripčních faktorů (Molina et al. 2017), zvířecí modely naznačují pozitivní roli vitaminu D v myogenezi (Oku et al. 2016). Vitamin D také může hrát roli v regulaci vápníkových kanálů sarkoplazmatického retikula a tak ovlivnit svalovou kontrakci nebo narušit mitochondriální pochody a ovlivnit tak sekreci inzulinu (Molina et al. 2017).

5.5. Vitamin D u dětí a adolescentů s IBD

Problematikou prevalence nízkých koncentrací vitaminu D a jeho suplementace u pediatrických pacientů s IBD se zabývala řada studií, jejichž výsledky však nejsou konzistentní. Významný podíl na tom může mít použití rozdílné metodiky.

Snížené koncentrace vitaminu D (25-OHD < 50 nmol/l) byly v průřezové studii na dětech a adolescentech s IBD v České republice zaznamenány u 36 % pacientů (Maratova et al. 2017). To se shoduje i s výsledky studie, kterou provedla Wingate et al. (2014) u dětí s CD, kde byla prevalence sérové koncentrace 25-OHD nižší než 50 nmol/l zaznamenána u 33 % pacientů, což nicméně přibližně odpovídá zdravé populaci. Naproti tomu Pappa et al. (2011) ve své studii zjistila sníženou koncentraci vitaminu D pouze u 14,3 % pacientů s IBD, významnou roli zde sehrálo roční období odběru (více deficitu v zimě). Odpověď na otázku, zda je prevalence snížené koncentrace 25-OHD u dětí s IBD vyšší oproti zdravé populaci je sporná. Zatímco některé studie tento předpoklad potvrzují (El-Matary et al. 2011), jiným se jej prokázat nepodařilo (Veit et al. 2014). Předmětem diskuse je rovněž otázka, zda a jak pacienti s IBD profitují z vyšších sérových koncentrací 25-OHD. Zatímco dle IOM neexistuje dostatek důkazů pro toto tvrzení (Rosen et al. 2012), Pappa et al. (2011) navrhuje

u těchto pacientů minimální sérovou koncentrací 25-OHD 80 nmol/l. Výsledky studií u dětí a adolescentů s IBD ukazují, že při substituci 400 IU/d vitamínu D₃ po dobu 6 měsíců, popřípadě při substituci 400 IU/d vitamínu D₂ po dobu 1 roku je dosaženo sérové koncentrace 25-OHD > 50 nmol/l u 87 %, resp. 79 % pacientů (Wingate et al. 2014; Pappa et al. 2014). Srovnatelných výsledků bylo dosaženo i při perorální substituci 2 000 IU/d vitamínu D₃ (Wingate et al. 2014). Pro dosažení sérové koncentrace 25-OHD > 75 nmol/l je však vhodnější substituce 2 000 IU/d vitamínu D₃ (Wingate et al. 2014). Žádná z výše uvedených studií neprokázala zlepšení zánětlivých parametrů nebo snížení aktivity onemocnění hodnocené prostřednictvím Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI) a Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI) u substituovaných pacientů (Wingate et al. 2014).

6. DIABETES 1. TYPU

Diabetes 1. typu (DM1) vzniká jako důsledek autoimunitního procesu mediovaného T-buňkami a postihujícího beta buňky Langerhansových ostrůvků pankreatu. Destrukcí beta buněk způsobuje infiltrace Langerhansových ostrůvků dendritickými buňkami, makrofágy a T-lymfocyty, zbylé buňky pankreatu, tedy alfa a delta, postiženy nejsou. Dlouhodobá expozice prozánětlivým cytokinům vede zpočátku ke snížené schopnosti beta buněk produkovat a uvolňovat inzulín a v dlouhodobém horizontu k jejich destrukci (Stankov et al. 2013). V době prvních klinických projevů onemocnění je značná část sekreční kapacity beta buněk zničena, dochází tak k rozvoji pro DM1 charakteristické vysoké hladiny cukru v krvi (hyperglykémii). Primárním cílem léčby DM1 je udržet glykémii na optimální úrovni a minimalizovat tak riziko vzniku a rozvoje sekundárních komplikací, mezi které se řadí mikro- a makrovaskulární komplikace (Papadopoulou-Marketou et al. 2017), sarkopenie a osteoporóza (Yamamoto 2015).

Na etiopatogenezi DM1 se podílí jak genetická, tak environmentální složka. O podílu environmentálních faktorů na vzniku DM1 svědčí jednak studie prováděné na monozygotních dvojčatech, kde byla zaznamenána konkordance v rozmezí mezi 23 až 45 %, (Kaprio et al. 1992; Committee on Diabetic Twins Japan Diabetes Society 1988) a jednak zvyšující se incidence DM1 v jinak geneticky stabilních populacích (Patterson

et al. 2019; Cinek et al. 2003; Cinek et al. 2012; Cinek et al. 2000). Jen v České republice došlo dle údajů Českého registru dětského diabetu mezi lety 1989 a 2012 k nárůstu incidence DM1 z 6,8/100 000/rok na 24/100 000/rok (Cinek et al. 2003; Cinek et al. 2012; Cinek et al. 2000). Mezi diskutované negenetické vlivy podílející se na vzniku DM1 patří infekce, např. enteroviry nebo rubeola, nutriční faktory jako je délka kojení nebo věk při zavedení kravského mléka do stravy, dále vyšší věk matky, porod císařským řezem nebo omezený kontakt s jinými dětmi (Sumnik et al. 2004; Yoon et al. 1989; Cardwell et al. 2008; Malcova et al. 2006).

6.1. Kostní denzita, geometrie a pevnost kosti u osob s diabetem 1. typu

Osteoporóza byla poprvé popsána u pacientů s DM1 v roce 1948 (Albright & Reifenstein 1948). Snížená BMD u dospělých pacientů byla od té doby potvrzena řadou studií (Verroken et al. 2017; Zhukouskaya et al. 2013). Snížená plošná BMD byla popsána jak v oblasti páteře (Z-skóre $-0,55 \pm 1,35$ SD), tak v oblasti krčku femuru (Z-skóre $-0,64 \pm 1,1$ SD) (Zhukouskaya et al. 2013). Trabekulární BMD byla u dospělých pacientů s DM1 za použití pQCT snížena o 8,8 % ve srovnání s kontrolní skupinou, kortikální BMD byla o 2,1 % zvýšená (Verroken et al. 2017). Pomocí této metody byla navíc prokázána alterace geometrie kosti, pacienti s DM1 vykazovali sníženou šíři kortikální kosti (Verroken et al. 2017).

U dětí a adolescentů s DM1 byla rovněž uskutečněna celá řada studií, a to jak za použití DXA (Heap et al. 2004; Loureiro et al. 2014; Salvatoni et al. 2004; Brandao et al. 2007; Valerio et al. 2002; Saha et al. 2009; Moyer-Mileur et al. 2004; Parthasarathy et al. 2016), tak pQCT (Saha et al. 2009; Moyer-Mileur et al. 2004; Bechtold et al. 2006; Roggen et al. 2013; Bechtold et al. 2007; Heap et al. 2004). Výsledky těchto studií jsou rozporuplné – BMD lumbální páteře měřená prostřednictvím DXA byla popsána buďto v normě (Heap et al. 2004; Brandao et al. 2007), nebo snížená (Loureiro et al. 2014; Valerio et al. 2002; Moyer-Mileur et al. 2004) a pohybovala se v rozmezí Z-skóre od $-0,44 \pm 1,02$ SD do $-1,15 \pm 1,2$ SD. BMD v oblasti krčku femuru byla měřena pouze jednou studií (Heap et al. 2004) a byla ve srovnání se zdravou populací snížena ($p=0,05$). Trabekulární BMD byla u pacientů s DM1 v normě (Roggen et al. 2013; Bechtold et al. 2006) nebo snížená (Heap et al. 2004; Moyer-Mileur et al. 2004; Bechtold et al. 2007). Podobně hodnoty naměřené kortikální BMD se pohybovaly od

snížené (Bechtold et al. 2007), přes normální (Bechtold et al. 2006; Heap et al. 2004) ke zvýšené (Moyer-Mileur et al. 2004). Jakým způsobem se denzitometrické parametry mění po zahájení terapie, se zabývaly dvě studie. Zatímco Bechtold et al. (2007) popsala zlepšení jak trabekulární tak kortikální BMD u pacientů s DM1, Moyer-Mileur (2004) naopak zaznamenal zhoršení kortikální BMD a trvale sníženou trabekulární BMD.

Publikované studie zabývající se otázkou zvýšené incidence fraktur u pacientů s DM1 ve srovnání se zdravou populací byly zaměřeny převážně na dospělou populaci (Thong et al. 2018; Shah et al. 2015; Weber et al. 2015; Hothersall et al. 2014; Miao et al. 2005; Yamamoto 2015; Zhukouskaya et al. 2013). Dle výsledků doposud poslední publikované meta-analýzy (Thong et al. 2018) mají jedinci s DM1 již v období mladší a střední dospělosti zvýšené riziko vzniku fraktury (RR 1,88; 95 % CI 1,52 - 2,32), nejvyšší riziko je v oblasti v krčku femuru (RR 4,40; 95 % CI 2,58 – 7,50). Výsledky velké populační studie z let 1994 až 2012 ukázaly zvýšené riziko vzniku fraktur u pacientů s DM1 oproti zdravé populaci v průběhu celého života. Nejvyššího rizika dosahovali muži ve věkové kategorii 60 – 69 let (HR 2,18; 95 % CI 1,79 – 2,65) a ženy ve 4. deceniu (HR 2,03; 95 % CI 1,73 – 2,39) (Weber et al. 2015). Přestože snížení BMD bylo prokázáno u pacientů s DM1 již v dětském věku, existuje pouze jen několik málo studií zabývajících se otázkou incidence fraktur u dětské populace. Weber et al. (2015) ve své studii zaznamenal pouze mírně zvýšené riziko fraktur u dětí, tedy ve věkové kategorii do 19 let - u chlapců bylo konkrétně HR 1,14 (95 % CI 1,01 – 1,29) a u dívek 1,35 (95 % CI 1,12 – 1,62). Jiné studie naopak zvýšené riziko vzniku fraktur u dětí a adolescentů s DM1 ve srovnání s nediabetickou populací nepotvrdily (Roggen et al. 2013; Moyer-Mileur et al. 2004; Heap et al. 2004). Faktem však je, že se zvyšujícím se věkem riziko vzniku fraktur u těchto pacientů narůstá.

Etiopatogeneze skeletálních komplikací u pacientů s DM1 nebyla dosud kompletně objasněna, je však zřejmě multifaktoriální povahy. Mezi možné faktory podílející se na skeletálních komplikacích patří insulinopenie, hyperkalciurie, nízké hladiny IGF-1, deficit vitamínu D nebo narušená mikrovaskulární cirkulace (Thraillkill et al. 2014; Mao et al. 2014; Costa de Souza et al. 2016; Vestergaard 2007; Napoli et al. 2017; Moyer-Mileur et al. 2008). Negativní roli v přírůstku kostní tkáně u pacientů s DM1 může hrát rovněž i hyperglykémie (Terada et al. 1998; Loureiro et al. 2014). Jedna z hypotéz

alespoň z části přičítá alteraci skeletu u těchto pacientů nedostatečné stimulaci kosterním svalstvem, jehož funkce jsou vlivem onemocnění narušeny (Fricke et al. 2008).

6.2. Svalové funkce u pacientů s diabetem 1. typu

Sarkopenie je považována za závažnou pozdní komplikaci DM1. Snížená svalová síla je u dospělých pacientů nejčastěji dávána do souvislosti s diabetickou polyneuropatií (DPN) (Andreassen et al. 2014) způsobující demyelinizaci a ztrátu axonů (van der Heyden et al. 2013; Dyck et al. 1986). Prevalence DPN se pohybuje mezi 13 až 54 % (Mazanec et al. 2009). Zatímco některé studie popisují sníženou svalovou sílu pouze u pacientů s DPN (Andreassen et al. 2014), jiné studie zaznamenaly kromě snížené svalové síly také vyšší únavu svalů i u pacientů s DM1 bez komplikací (Orlando et al. 2017).

Narušení růstu a rozvoje kosterního svalstva v dětství působením negativních vlivů, jako je imobilita nebo chronické onemocnění, může z dlouhodobého hlediska vést ke snížení lean mass a svalové síly (Krause et al. 2011). Zda a do jaké míry postihuje tento problém pacienty s DM1 v dětském věku, není zcela jasné. Úroveň fyzické aktivity se u pacientů s DM1 v zásadě neliší od jejich zdravých vrstevníků (Moyer-Mileur et al. 2004; Bechtold et al. 2006; Lukacs et al. 2012; Nguyen et al. 2015). Fitness u nich bylo pozorováno buďto bez významného rozdílu (Nguyen et al. 2015) nebo snížené (Lukacs et al. 2012), což může být zapříčiněno právě neuromuskulární poruchou. Snížená vzrušivost distální motorických nervů (van der Heyden et al. 2013) a snížený počet motorických jednotek (Toth et al. 2014) byly totiž zaznamenány již u dětí a adolescentů s relativně krátkým trváním DM1. Pouze tři studie se zabývaly otázkou svalových funkcí u dětí a adolescentů s DM1 (Fricke et al. 2008; Bechtold et al. 2006; Nguyen et al. 2015). Zatímco Bechtold et al. (2006) za použití ruční dynamometrie zaznamenala zvýšenou svalovou sílu jak u dívek, tak u chlapců s DM1 (Z-skóre 0,85 +/- 1,3 SD, resp. 0,94 +/- 1,1 SD), Fricke et al. (2008) při použití stejné metody popsal isometrickou sílu stisku ruky sníženou (Z-skóre -1,06 +/- 1,76 SD). Za překvapivý pak lze rovněž označit výsledek vyšší maximální svalové síly u skupiny dětí s HbA1c přes 8,5 % ve srovnání se skupinou s HbA1c pod 8,5 % (Z-skóre 0,08 +/- 1,51 SD vs. -1,74 +/- 1,54 SD) (Fricke et al. 2008) a to z toho důvodu, že horší kompenzace diabetu je jednou z často

diskutovaných příčin narušených svalových funkcí u těchto pacientů. Nguyen et al. (2015) však ve své studii vliv míry kompenzace diabetu u adolescentů na svalovou sílu nepotvrdil ($p = 0,94$). Adolescenti se špatnou kompenzací ($HbA1c \geq 9\%$) vykazovali srovnatelnou svalovou sílu (Z-skóre $0,37 \pm 0,15$ SD), aerobní fitness a míru fyzické aktivity jako jedinci s dobrou kompenzací diabetu ($HbA1c \leq 7,5\%$, Z-skóre svalové síly $0,35 \pm 0,14$ SD) a zdraví jedinci (Z-skóre $0,38 \pm 0,13$ SD). Bechtold et al. (2006) připsala jako možnou příčinu zvýšené svalové síly u zkoumané skupiny pacientů jejich zvýšené motivaci lékařem při provádění testu a připustila, že zaznamenané hodnoty tedy nemusí odpovídat skutečnému fitness. Jako vhodnější metoda pro hodnocení dynamických svalových funkcí u dětí a adolescentů se jeví mechanografie, kterou použil Fricke et al. (2008). Takto hodnocená maximální svalová síla (Z-skóre $0,15 \pm 1,07$ SD) a maximální výkon (Z-skóre $-0,11 \pm 1,21$ SD) byla rovněž srovnatelná se zdravou populací. Z výše uvedených výsledků je patrné, že tato problematika si z hlediska dlouhodobé prognózy pacientů s diabetem zasluhuje zvýšenou pozornost a k jejímu objasnění je třeba dalších studií.

7. HYPOTÉZA A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

7.1. Studie 1 - IBD

Hypotéza:

Suplementace 2 000 IU cholekalciferolu má pozitivní vliv na BMD a svalové funkce, které jsou u pacientů s IBD zhoršené.

Cíle – průřezová studie:

1. Charakterizovat muskuloskeletální jednotku u dětí a adolescentů s IBD za použití pQCT a mechanografie.
2. Zhodnotit prevalenci vertebrálních fraktur u těchto pacientů prostřednictvím laterogramu thorakolumbální páteře.
3. Stanovit prevalenci latentního deficitu vitamínu D u dětských pacientů s IBD.

Cíle – longitudinální studie:

1. Za použití pQCT u dětí a adolescentů s IBD zhodnotit změny ve vybraných denzitometrických parametrech po substituci 2000 IU 25-OHD v průběhu 12 měsíců.
2. Za použití mechanografie u dětí a adolescentů s IBD zhodnotit změny v parametrech dynamických svalových funkcí po substituci 2000 IU 25-OHD v průběhu 12 měsíců.
3. Stanovit prevalenci deficitu vitamínu D u dětí s IBD po substituci 2000 IU 25-OHD v průběhu 12 měsíců a zhodnotit změny sérových koncentrací 25-OHD.
4. Určit klinické a laboratorní prediktory vybraných svalových a denzitometrických parametrů a stanovit možné podskupiny pacientů vhodných k substituci 25-OHD.

7.2. Studie 2 - DM1

Hypotéza:

Ke snížené BMD zaznamenané u pacientů s DM1 přispívá nedostatečná stimulace kosterním svalstvem v důsledku narušených svalových funkcí, které se zhoršují s délkou trvání diabetu a závisí na jeho dlouhodobé kompenzaci.

Cíle:

1. Za použití pQCT zhodnotit volumetrickou BMD a geometrii kosti u krátkodobě (méně než 6 let) a dlouhodobě (více než 9 let) léčených pediatrických pacientů s DM1.
2. Za použití mechanografie porovnat dynamické svalové funkce mezi oběma skupinami.
3. Zhodnotit vliv svalových funkcí a koncentrace 25-OHD na denzitometrické parametry u pacientů s DM1.
4. Stanovit klinické a laboratorní prediktory vybraných svalových a denzitometrických parametrů.

8. METODIKA

8.1. Studie 1 – IBD

8.1.1. Pacienti a design studie

Screeningem pro zařazení do studie prošlo celkem 82 pacientů, kteří byli pravidelně sledováni v IBD centru Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN v Motole. Dvanáct z nich bylo ze studie vyloučeno z důvodu nesplnění vstupních kritérií, která jsou uvedena níže: dva pacienti vyžadovali totální parenterální výživu, čtyři podstoupili resekci tenkého střeva v délce větší než 30 cm a šest pacientů nesouhlasilo se zařazením do studie. Přestože pacienti, kteří neprošli screeningem (N= 12), byli signifikantně starší ve srovnání s pacienty zařazenými do studie (N = 70) (medián věku 16,8 resp. 13,8 roku, $p = 0,002$), nebyl mezi oběma skupinami zaznamenán významný rozdíl v Z-skóre tělesné výšky (medián Z-skóre -0,38 resp. -0,78, $p = 0,4$), hmotnosti (medián Z-skóre -0,28 resp. -0,53, $p = 1,0$), BMI (medián Z-skóre -0,19 resp. -0,27, $p = 0,5$) ani v aktivitě onemocnění hodnocené prostřednictvím indexů PCDAI/PUCAI (medián v době screeningu 5,0 resp. 7,5, $p = 0,5$).

Všechna plánovaná vyšetření proběhla u 55 dětí a adolescentů ze 70 zařazených do studie, 15 pacientů bylo vyřazeno buď z důvodu non-compliance pacienta či rodiny nebo se nedostavilo k naplánovaným kontrolám. Do průřezové studie bylo zařazeno celkem 70 dětí a adolescentů s IBD, do longitudinální studie pak bylo zařazeno 55 z nich.

Vstupní kritéria:

- Věk 6 až 19 let
- Diagnóza IBD potvrzená na základě Portských kritérií (Levine et al. 2014)
- Podpis informovaného souhlasu se zařazením do studie

Vyřazovací kritéria:

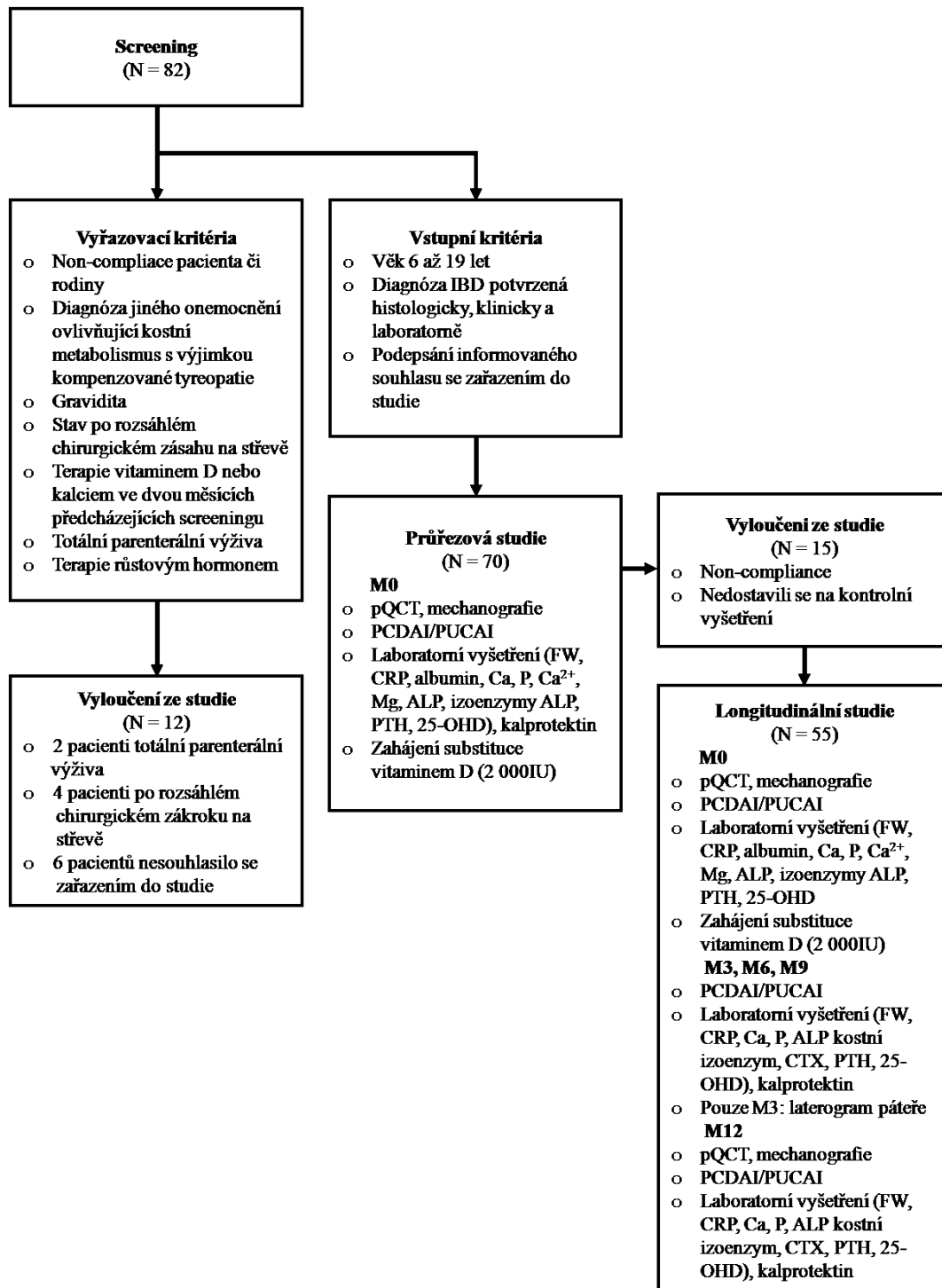
- Non-compliance pacienta či rodiny
- Diagnóza jiného onemocnění ovlivňujícího kostní metabolismus s výjimkou kompenzované tyreopatie
- Gravidita
- Stav po rozsáhlém chirurgickém zákroku na gastrointestinálním traktu
- Terapie vitamínem D nebo kalcíem ve dvou měsících předcházejících screeningu
- Totální parenterální výživa
- Terapie růstovým hormonem

Protokol longitudinální studie se skládal celkem z šesti bodů, a to ze screeningu a pěti navazujících kontrol označovaných jako M0, M3, M6, M9 a M12 (obrázek 5). Každá z návštěv korespondovala s pravidelnou kontrolou v gastroenterologické ambulanci Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol. Kontroly se uskutečnily vždy s odstupem 3 měsíců, délka studie tedy byla naplánována na jeden rok. V průběhu screeningu byla hodnocena způsobilost pacienta pro zařazení do studie a rodiče nebo zákonní zástupci byli seznámeni s cíli a průběhem studie. Získán byl také kladný informovaný souhlas se zařazením pacienta do studie. V souladu s „Pařížskou modifikací Montrealské klasifikace“ IBD (Silverberg et al. 2005) byla o pacientovi zaznamenána základní klinická data a informace o terapii onemocnění.

V průběhu každé následující kontroly byla zhodnocena aktivita onemocnění prostřednictvím indexů aktivity PCDAI a PUCAI. Rovněž bylo provedeno laboratorní vyšetření. V bodě M0, byla zahájena substituce 25-hydroxycholekalciiferolu v denní dávce 2 000 IU (tj. Vigantol 4 gtt/den).

V bodech M0 a M12 byly za použití pQCT zhodnoceny parametry volumetrické kostní denzity a geometrie kosti (viz 8.3.2. Kostní denzita a geometrie kosti). Dále byly prostřednictvím mechanografie zaznamenány parametry dynamických svalových funkcí (viz 8.3.3. Svalové funkce). V bodě M3 byl proveden laterogram thorakolumbální páteře za účelem zhodnocení výskytu asymptomatických vertebrálních fraktur (8.3.4. Stanovení prevalence fraktur a hodnocení vertebrálních fraktur). Laterogram páteře byl

vyhotoven u 65 pacientů ze 70, kteří byli zařazeni do studie. Pět pacientů neposkytlo souhlas s provedením RTG vyšetření, a proto nebyli zařazeni do hodnocení.



Obrázek 5: Protokol studie.

8.1.2. Stanovení aktivity onemocnění a sledované biochemické parametry

Při pravidelných ambulantních návštěvách, tedy v každém bodě studie, byla u pacientů hodnocena aktivita onemocnění prostřednictvím indexů aktivity PCDAI (Hyams et al. 1991) a PUCAI (Turner et al. 2007). Rovněž byl proveden odběr krve a stolice. Sledovány byly následující biochemické parametry: sérová koncentrace 25-hydroxycholekalCIFerolu (25-OHD, měřeno chemiluminiscenční mikročásticovou imunoesejí), alkalická fosfatáza (ALP, měřeno IFCC kolorimetrickou metodou při 37°C), C-reaktivní protein (CRP, měřeno imunoturbidimetrickou esejí) a fekální kalprotektin (F-kalprotektin, analyzován imunochromatograficky prostřednictvím eseje ELISA Quantum Blue). Sérové koncentrace parathormonu (PTH) a C-terminálního telopeptidu kolagenu typu I. (CTX) byly měřeny prostřednictvím elektrochemiluminiscenční imunoeseje. Sedimentační rychlost erytrocytů (ESR) byla měřena v první hodině Fahraeus-Westergrenovou metodou. Sérová koncentrace 25-OHD byla hodnocena na základě publikovaných mezinárodních doporučení (Munns et al. 2016).

8.1.3. Statistická analýza

Statistická analýza dat byla provedena v programu R (vezre 3.2.3.) (R Core Team 2015). Spojité proměnné jsou uváděny jako medián s interquartilovým rozpětím (IQR). Kategorické proměnné (např. počet pacientů v remisi, extraintestinální manifestace onemocnění, anti-TNF terapie a terapie kortikosteroidy) jsou udávány jako absolutní četnost (počet) a relativní četnost (procenta). Naměřená data byla standardizována za použití dostupných referenčních dat výpočtem Z-skóre. Rozdíl ve vybraných antropometrických, denzitometrických a mechanografických parametrech mezi zdravou populací a pacienty s IBD byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Dvouvýběrový t-test s Welchovou aproximací byl použit k zhodnocení rozdílu v numerických proměnných. Věrohodnostní poměr (likelihood ratio, LR) byl použit k hodnocení rozdílu kategorických proměnných. Asociace mezi dvěma numerickými proměnnými byla hodnocena prostřednictvím mnohočetné lineární regrese.

Vliv substituce 2 000 IU cholekalCIFerolu na sérové koncentrace 25-OHD v průběhu trvání studie a na antropometrické, denzitometrické a mechanografické parametry na

začátku a na konci studie byl hodnocen pomocí lineárního smíšeného modelu. Výběr proměnných zařazených do tohoto modelu byl založen na Akaikovo informačním kritériu (Holčík & Komenda 2015). Ke zhodnocení zda změny v denzitometrických a svalových parametrech skutečně závisely na substituci cholekalciferolem byl vytvořen lineární smíšený model. Outcome lineárního smíšeného modelu byla Z-skóre trabekulární BMD, SSI, P_{max} , $P_{max}/mass$, F_{max} , F_{max}/BW , za prediktory byly zvoleny parametry substituce cholekalciferolem a její délka, tělesná hmotnost, diagnóza (CD nebo UC), aktivita onemocnění, věk pacienta v bodě M0 studie a podíl pacientů na kortikosteroidní léčbě. V případě, že outcomem byly denzitometrické parametry, pak byla mezi prediktory zařazena také Z-skóre P_{max} , $P_{max}/mass$, F_{max} , F_{max}/BW a zbylé denzitometrické parametry (SSI nebo trabekulární BMD). Pokud outcome byly dynamické svalové funkce, pak prediktorem byla rovněž Z-skóre trabekulární BMD a SSI. Lineární regresní model byl rovněž vytvořen k identifikaci prediktorů zlepšeného Z-skóre trabekulární BMD a $P_{max}/mass$.

8.2. Studie 2 - DM1

8.2.1. Pacienti a design studie

Celkem 132 pacientů sledovaných v diabetologickém centru Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN v Motole bylo zhodnoceno pro možné zapojení do studie, 95 (59 chlapců) z nich splňovalo stanovená vstupní kritéria uvedená níže. Vybraní pacienti byli osloveni v rámci pravidelné kontroly ošetřujícím diabetologem. Všichni oslovení pacienti souhlasili se zařazením do studie.

Před začátkem studie byla formulována vstupní a vyřazovací kritéria.

Vstupní kritéria:

- Věk mezi 14 a 19 lety
- Délka trvání onemocnění méně než 6 let nebo více než 9 let

Vyřazovací kritéria:

- Diagnóza jiného onemocnění ovlivňujícího kostní metabolismus s výjimkou kompenzované tyreopatie
- Gravidita
- Léčba preparáty ovlivňujícími kostní metabolismus
- Akutní nebo chronická bolest dolních končetin

V průběhu jednoho dne podstoupili pacienti denzitometrické vyšetření pomocí pQCT a byly zhodnoceny dynamické svalové funkce za použití mechanografie. V rámci osobního pohovoru byla u pacientů zaznamenána historie klinicky významných fraktur a u dívek byl zaznamenán věk menarche. Ve stejný den bylo rovněž provedeno laboratorní vyšetření. Sledovány byly následující biochemické parametry: sérová koncentrace 25-hydroxycholekalciiferolu (25-OHD, měřeno chemiluminiscenční mikročásticovou imunoesejí) a parathormonu (PTH měřeno prostřednictvím elektrochemiluminiscenční imunoeseje). Sérová koncentrace glykovaného hemoglobinu (HbA1c, vysoceúčinná kapalinná chromatografie). Pro účely této studie byl HbA1c hodnocen retrospektivně jako průměr za posledních 5 let.

8.2.2. Statistická analýza

Statistická analýza dat byla provedena v programu R (vezre 3.2.3.) (R Core Team 2015). Jednovýběrový t-test byl proveden pro porovnání naměřených dat s referenčními údaji, dvouvýběrový t-test s Welchovou aproximací byl použit pro srovnání dat mezi skupinami pacientů (krátkodobě vs. dlouhodobě léčení pacienti, dívky vs. chlapci). Asociace mezi denzitometrickými nebo mechanografickými parametry adjustovanými na pohlaví a délku trvání onemocnění a biochemickými parametry byla testována pomocí lineární regresní analýzy.

8.3. Metodika měření

8.3.1. Antropometrické parametry

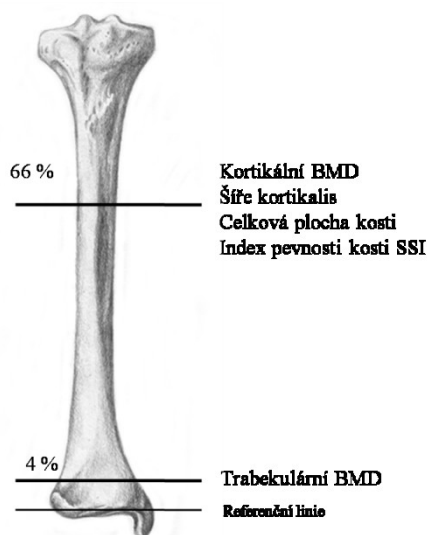
Tělesná výška pacientů byla měřena s přesností na 1 mm za použití na zeď připevněného antropometru (A-226, Trystom, Olomouc, Česká republika). Tělesná hmotnost byla měřena buď ve spodním prádle nebo v lehkém oblečení s přesností 0,1 kg. Použita byla pravidelně kalibrovaná elektronická váha (TH200, Tona, Úpice, Česká republika). K hodnocení stavu výživy pacientů byl použit body mass index (BMI). BMI byl vypočítán za použití standardní rovnice: tělesná hmotnost [kg]/tělesná výška² [m]. Pohlavně a věkově specifická Z-skóre pro dané antropometrické parametry byla vypočítána za použití referenčních údajů z 6. celostátního antropologického výzkumu z roku 2001 (Kobzova et al. 2004).

8.3.2. Kostní denzita a geometrie kosti

Kostní denzita a geometrie kosti byla hodnocena za použití pQCT (XCT 2000, Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Německo). pQCT je neinvazivní vyšetřovací metoda. Vyšetření je prováděno vklidu, vsedě. Za účelem dostatečné kvality a reproducibility skenu je možno měřený objekt (radius/tibia) fixovat pomocí končetinových fixátorů, k fixaci končetiny se přistupuje zejména u mladších dětí, pro které může udržení klidové polohy po celou dobu vyšetření být náročnější. Cílem fixace je tedy omezení výskytu pohybových artefaktů. Na rozdíl od běžně používané duální rentgenové absorbometrie (DXA) zohledňuje pQCT v průběhu vyšetření nejen tělesnou výšku

probanda, ale také délku měřeného objektu. Použitím pQCT by tak měly být eliminovány nepřesnosti měření typické pro DXA, která může poskytovat falešně nízké výsledky kostní denzity u menších dětí a osob s malým vzrůstem.

Vybrané denzitometrické parametry byly měřeny na nedominantní tibií (dominance byla odvozena od horních končetin). Délka tibie byla měřena jako vzdálenost mezi *malleolus medialis tibiae* a horním okrajem *condylus medialis tibiae*. Za účelem přesného umístění referenční linie byl na počátku vyšetření proveden iniciální sken (scout view). V případě jedinců s nedokončenou osifikací skeletu byla referenční linie umístěována v oblasti epifyzální růstové chrupavky na distální okraj metafýzy. U jedinců s dokončenou osifikací byla referenční linie umístěována v oblasti kloubní chrupavky v rovině laterálního okraje distální epifyzy tibie. Posléze byly vyhotoveny dva snímky o tloušťce řezu 2 mm a velikosti voxelu 0,4 mm v úrovni odpovídající 4 % a 66 % délky tibie (obrázek 6). Trabekulární BMD byla měřena v oblasti distální tibie (4 % místo). Na proximálním konci (66 % místo) byla měřena kortikální BMD, šíře kortikalis, celková plocha kosti a index pevnosti kosti SSI (Stress Strain Index).



Obrázek 6 Grafické znázornění měřených denzitometrických parametrů a umístění jejich polohy ve vzdálenosti korespondující se 4 a 66 % délky tibie od referenční linie. Upraveno podle (Souček 2012).

Index pevnosti kosti SSI je parametr významný pro klinickou praxi, který umožňuje zpřesnění predikce fraktur v porovnání s použitím pouze BMD (Souček 2012). SSI je parametr vypočítaný integrovaným XCT softwarem prostřednictvím níže uvedeného vzorce na základě znalostí materiálové fyziky.

$$SSI = \sum_{i=0}^n \frac{r_i^2 a \left(\frac{CD}{ND} \right)}{r_{max}}$$

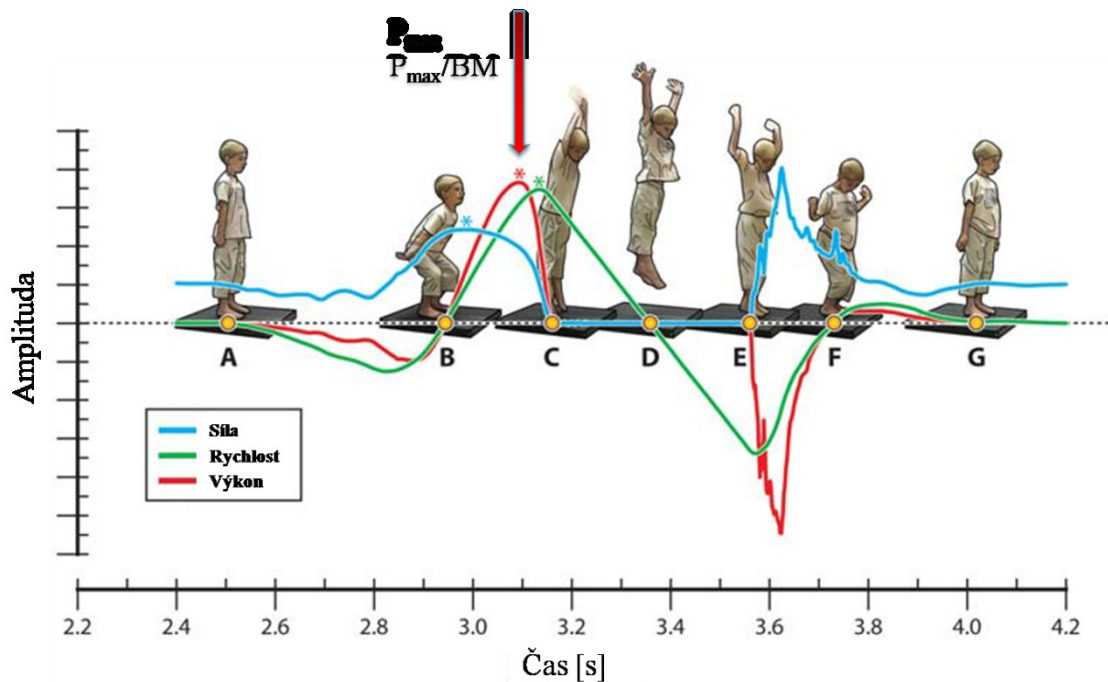
Kde: r_{max} je vzdálenost voxelu od středu, CD je zdánlivá kortikální BMD, ND je normální kortikální BMD, r_i je pozice pixelu od středu, a je plocha pixelu (Hasegawa et al. 2001).

Snímky byly analyzovány integrovaným XCT softwarem (verze 6.20 C). Získaná data byla normalizována výpočtem pohlavně a věkově specifických Z-skóre pomocí publikovaných referenčních dat (Moyer-Mileur et al. 2008). K analýze byly použity pouze snímky dobré kvality, tedy bez pohybových artefaktů. V případě nízké kvality snímků bylo vyšetření vzhledem k nízké radiační zátěži (1 uSv) opakováno. Přesnost měření byla zajištěna pravidelnou kalibrací přístroje, která byla prováděna alespoň jednou týdně za použití hydroxyapatitového fantomu poskytovaného výrobcem.

8.3.3. Svalové funkce

Dynamické svalové funkce byly hodnoceny pomocí mechanografu (jumping mechanography) za použití Leonardo Mechanography Ground Reaction Force Platform (Novotec Medical GmbH, Pforzheim, Německo, verze 4.1.19). Mechanograf se skládá ze dvou reakčních desek vybavených tenzometrickými senzory, které zaznamenávají změny na podložce. Hodnocení dynamických svalových funkcí bylo realizováno za použití dvou testů, a to single two-legged jump (S2LJ) a multiple one-legged hopping (M1LH). Test S2LJ je založen na provedení jediného vertikálního výskoku snožmo z polohy v podřepu. Jedná se o tzv. výskok s protipohybem (*counter-movement jump*), pro dosažení co možná největší výšky skoku si vyšetřovaný pacient může pomoci pohybem rukou. Testem S2LJ je měřen maximální svalový výkon (P_{max} , W) a vztahem výkonu k tělesné hmotnosti pacienta pak relativní svalový výkon ($P_{max}/mass$, W/kg). Smyslem tohoto testu tedy není měření svalové síly, ale zhodnocení

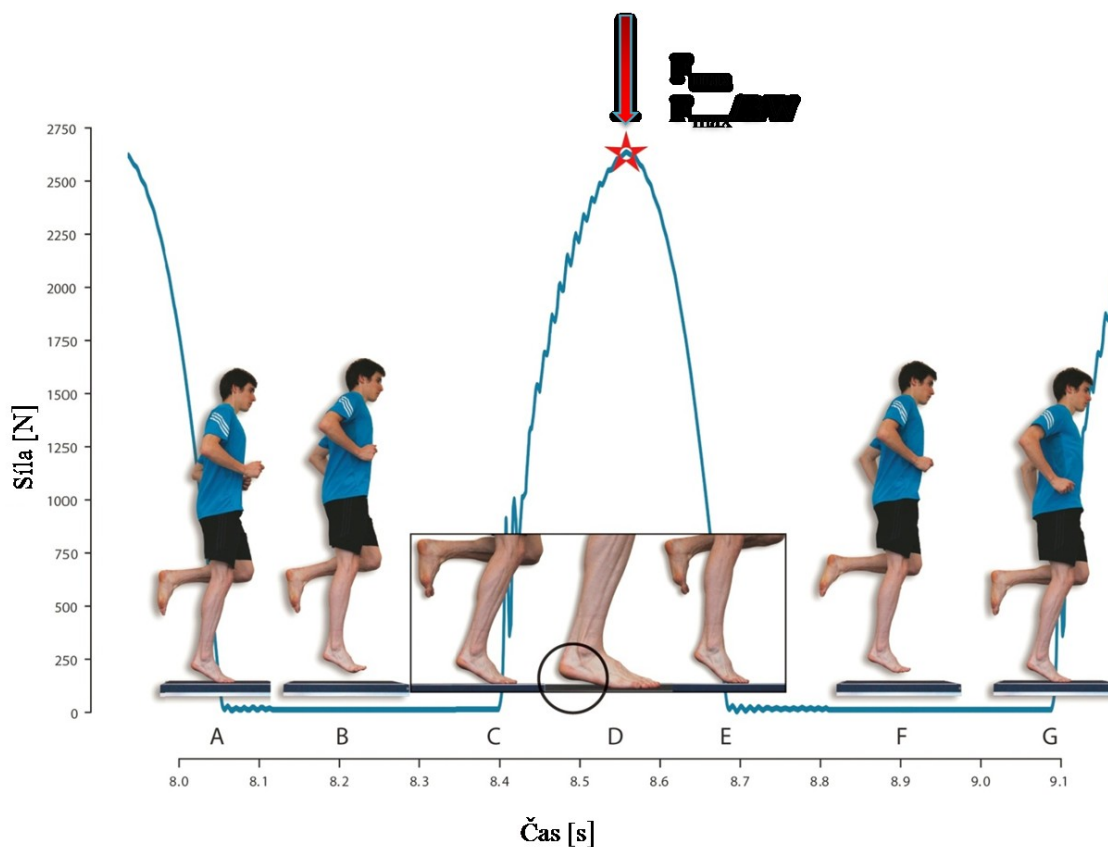
celkového svalového výkonu pacienta. Grafické znázornění průběhu testu S2LJ a měřených veličin je na obrázku 7.



Obrázek 7 Provedení a průběh testu single two-legged jump. V závislosti na čase je barevně znázorněn průběh měřených veličin, hvězdičkou je pak označen bod dosažení maximální volní svalové síly, rychlosti a výkonu. Fáze testu: A. klidová poloha, B. nejnižší bod protipohybu, C. odraz, D. nejvyšší bod skoku, E. první fáze dopadu, F. nejnižší bod po dopadu, G. klidová poloha. Upraveno podle (Veilleux & Rauch 2010).

K posouzení maximální svalové síly (F_{max} , N) byl proveden M1LH, vztažením na tíhovou sílu pacienta byl rovněž hodnocen relativní svalový výkon (F_{max}/BW , bez jednotky). M1LH je prováděn jako série rychlých výskoků za sebou. Výskok je prováděn na špičce jedné nohy. Pacient je instruován k provedení výskoku při co možná největší extenzi v kolením kloubu a bez dopadu na patu, který by mohl vést ke zkreslení výsledků. Průběh testu a zaznamenávané veličiny je možno vidět na obrázku 8.

Oba testy byly opakovány 3x a k další analýze byla použita pouze nejvyšší naměřená hodnota. Data byla normalizována výpočtem pohlavně a výškově specifických Z-skóre za použití dříve publikovaných referenčních dat (Sumnik et al. 2013). Tělesná výška byla zohledňována vzhledem k tomu, že retardace růstu představuje jednu z častých komplikací IBD u dětí.



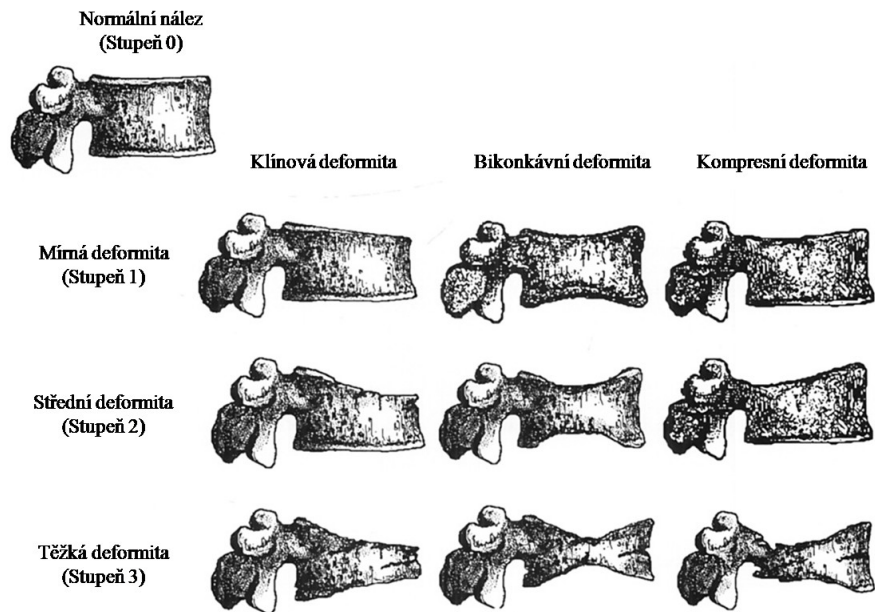
Obrázek 8 Průběh a provedení testu multiple one-legged hopping. V závislosti na čase je modrou křivkou znázorněn průběh maximální volní svalové síly. Fáze testu: A. odraz, B. nejvyšší bod výskoku, C. dopad, D. nejnižší bod po dopadu, E. odraz, F. nejvyšší bod skoku, G. dopad. Zvětšená oblast grafu znázorňuje průběh dopadu, kdy nedochází ke kontaktu paty s podložkou. Upraveno podle (Anliker & Toigo 2012).

8.3.4. Stanovení prevalence fraktur a hodnocení vertebrálních fraktur

Současně s denzitometrickým vyšetřením byl realizován s každým pacientem a jeho rodičem či zákonným zástupcem osobní pohovor za účelem zmapování výskytu klinicky významných fraktur v anamnéze pacienta. Za klinicky významnou frakturu byla považována fraktura dlouhé kosti, popř. vertebrální fraktura. Zaznamenáno bylo místo fraktury a její lateralita. Současně byl pro hodnocení klinicky významných fraktur zaznamenáván též mechanismus úrazu, který fraktuře předcházel.

U pacientů s IBD byla stanovena prevalence asymptomatických vertebrálních fraktur prostřednictvím laterogramu thorakolumální páteře. Snímky byly zhodnoceny zkušeným radiologem na Klinice zobrazovacích metod FNM za použití standardizovaného semikvantitativního hodnocení vertebrálních fraktur podle Genanta

znázorněného na obrázku 9 (Genant et al. 1993). U pacientů s nejasným RTG nálezem, byly snímky konzultovány s dr. Mäkitie z Karolinska institutu ve Švédsku.



Obrázek 9 Semikvantitativní hodnocení vertebrálních fraktur, upraveno dle (Genant et al. 1993). *Stupeň 0* normální vertebrální morfologie, *Stupeň 1* (mírná deformita) snížení vertebrálního těla anteriorně o 20 - 25 % a/nebo posteriorně o 10 - 20 %, *Stupeň 2* (střední deformita) snížení vertebrálního těla o 25 - 40 %, *Stupeň 3* (těžká deformita) snížení vertebrálního těla o více než 40 %.

9. VÝSLEDKY

9.1. Studie 1 - IBD - Průřezová studie

9.1.1. Klinická a biochemická charakteristika kohorty pacientů

Klinická a biochemická charakteristika pacientů je uvedena v tabulce 3. Medián věku byl 13,8 roku (IQR 11,9 – 15,5 roku), medián věku v době diagnózy IBD byl 11,2 roku (IQR 8,6 – 13,8 roku). Pacienti s CD byli starší a byli diagnostikováni v pozdějším věku v porovnání s pacienty s UC ($p = 0,024$ resp. $p = 0,008$). Ve srovnání s národními referenčními údaji byli pacienti zařazení do studie nižšího věku a měli nižší hmotnost. Podrobnější analýza dále ukázala, že pacienti s CD vykazovali nižší tělesnou výšku i hmotnost ve srovnání s pacienty s UC. Stav výživy hodnocený prostřednictvím BMI ukázal, že 3 pacienti (4,3 %) měli BMI pod 3. percentilem a tedy splňovali kritéria podváhy. Šest pacientů (8,6 %) mělo BMI pod 10. percentilem a 5 pacientů (7,1 %) mělo BMI nad 97. percentilem, tedy v pásmu obezity. Při porovnání antropometrických údajů mezi jednotlivými pohlavími nebyl nalezen významný rozdíl.

Kortikosteroidní terapie může mít negativní vliv na kostní metabolismus, z toho důvodu byla u pacientů retrospektivně (12 měsíců před zařazením do studie) hodnocena kumulativní dávka kortikosteroidů. Nízká dávka kortikoidů (medián kumulativní dávky 31,28 mg/kg/rok) byla předepsána v 16 případech (22,9 %).

Analýza vybraných laboratorních parametrů (fekální kalprotektin, ESR, PTH a 25-OHD) neodhalila významný rozdíl mezi pacienty s CD a UC. Sérová koncentrace 25-OHD byla stanovena u 55 ze 70 zařazených pacientů, z nich 9 (16,4 %) bylo vitamin D deficientních (<30 nmol/l), 11 pacientů (20 %) bylo v pásmu insuficience (30 - 50 nmol/l) a 35 pacientů (63,6 %) mělo sérovou koncentraci 25-OHD v normě (>50 nmol/l). Signifikantně vyšší koncentrace ALP byla zaznamenána u chlapců a u pacientů s UC ve srovnání s dívkami, respektive s pacienty s CD. Po adjustaci na pohlaví a věk byly sérové koncentrace ALP a PTH v mezích normy s výjimkou 8 pacientů (11 %), u kterých byla zaznamenána zvýšená ALP.

Tabulka 3 Klinické a biochemické parametry pacientů s IBD, rozděleno dle pohlaví a stanovené diagnózy.

	IBD (N = 70)	Chlapci (N = 39)	Dívky (N = 31)	P_A	CD (N = 53)	UC (N = 17)	P_B
Věk (r)	13,8 (11,9-15,5)	13,4 (11,6-12,8)	14,3 (12,5-16,3)	0,375	14,2 (12,7-16,1)	12,3 (9-14,5)	0,024
Věk v době diagnózy (r)	11,2 (8,6-13,8)	11,0 (8,5-12,8)	12,6 (8,9-15,0)	0,171	12,6 (9,7-14,1)	9,0 (5-11,1)	0,008
Výška (Z-skóre)	-0,8 (-1,6-0,0)***	-0,7 (-1,9-0,0)***	-1 (-1,5-0,0)***	0,790	-1,2 (-1,9-0,3)***	-0,1 (-0,9-0,4)	0,005
Hmotnost (Z-skóre)	-0,5 (-1,1-0,3)***	-0,6 (-1,3-0,3)**	-0,5 (-1,1-0,3)*	0,720	-0,8 (-1,4-0,1)***	0,3 (-0,5-0,7)	0,039
BMI (Z-skóre)	-0,3 (-0,9-0,5)	-0,4 (-1,2-0,5)	-0,2 (-0,6-0,4)	0,584	-0,3 (-0,9-0,4)	0,2 (-0,4-0,7)	0,508
Extraintestinální projevy (%)	65 (93)	36 (92)	29 (94)	0,841	49 (92)	16 (94)	0,813
Anti-TNF terapie (%)	44 (63)	25 (64)	19 (61)	0,809	29 (55)	15 (88)	0,008
Pacienti s CS terapií v posledních 12 m (%)	16 (23)	11 (28)	5 (16)	0,226	8 (15)	8 (47)	0,009
PCDAI/PUCAI	7,5 (0,0-12,5)	5,0 (0,0-12,5)	7,5 (0,0-15,6)	-	10,0 (5,0-15,6)	0,0 (0,0-5,0)	-
CRP [mg/l]	0,8 (0,5-2,8)	0,9 (0,5-3,7)	0,7 (0,5-2,5)	0,539	1,4 (0,5-3,9)	0,5 (0,5-1,5)	0,009
F-kalprotektin [ug/g]	319 (100-1662)	319 (100-1503)	544 (114-1662)	0,522	434 (100-1800)	242 (100-604)	0,252
ESR [mm/h]	15,5 (9,2-22,8)	14,0 (6,0-24,8)	17,5 (13,0-22,0)	0,684	17,0 (12,2-22,8)	8,5 (5,0-16,8)	0,086
PTH [pmol/l]	3,8 (2,9-5,4)	4,1 (2,9-5,8)	3,6 (3,1-4,5)	0,616	3,6 (2,8-5,4)	3,8 (3,5-5,5)	0,573
25-OHD [nmol/l]	56,5 (42,5-74,1)	57,5 (42,5-76,0)	56,5 (42,8-67,4)	0,834	56,1 (42,2-67,4)	60,2 (43,6-90,1)	0,302

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, vs. zdravé děti. P_A ukazuje rozdíl mezi pohlavím, P_B ukazuje rozdíl mezi pacienty s CD a UC. Dvouvýběrový t-test s Welchovou aproximací byl použit ke zhodnocení rozdílu numerických proměnných. Likelihood-ratio test byl použit pro zhodnocení rozdílu kategoriálních proměnných.

IBD inflammatory bowel disease, CD Crohnova choroba, UC ulcerózní kolitida, BMI body mass index, TNF tumor necrosis factor, CS kortikosteroidy, PCDAI Pediatric Crohn's Disease Index, PUCAI Pediatric Ulcerative Colitis Index, CRP C-reaktivní protein, F-kalprotektin fekální kalprotektin, ESR sedimentace, PTH parathormon, 25-OHD 25-hydroxycholekalcirol.

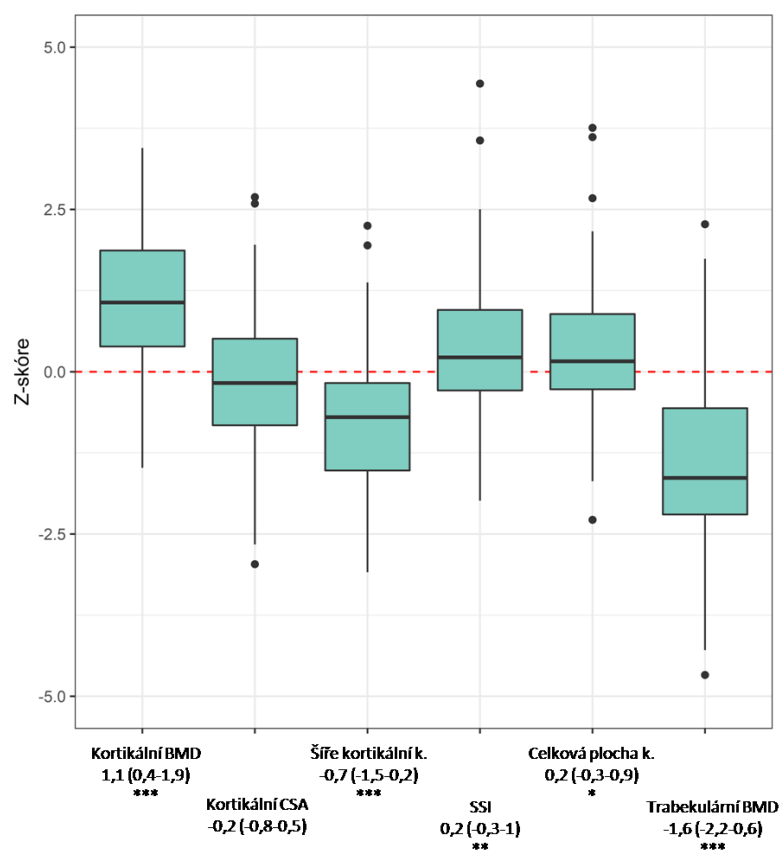
9.1.2. Pevnost a geometrie kosti

Parametry pevnosti a geometrie kosti jsou v podobě pohlavně a výškově specifických Z-skóre uvedeny v tabulce 4. Data jsou uvedena pro celou kohortu pacientů s IBD a dále jsou rozdělena dle diagnózy a pohlaví.

Na distální tibia (4 % místo) byla zaznamenána snížená hodnota Z-skóre trabekulární BMD ($p < 0,001$) a zvýšená plocha kosti ($p = 0,03$). Snížení trabekulární BMD se významně nelišilo mezi pacienty s CD a UC, zaznamenán ale byl rozdíl mezi pohlavími, kdy chlapi měli významně nižší trabekulární BMD ($p = 0,002$). Podrobnější analýza celkové plochy kosti neodhalila významné rozdíly jak mezi pohlavími, tak mezi diagnózami.

Naopak kortikální BMD a index pevnosti kosti SSI měřený v místě proximální tibie (66 % celkové délky) byl signifikantně zvýšený ($p < 0,001$, resp. $p = 0,01$) ve srovnání se zdravými vrstevníky. Oba parametry byly zvýšeny bez rozdílu pohlaví a diagnózy. Zajímavé je, že současně byla zaznamenána snížená šíře kortikální kosti ($p < 0,001$).

Grafické znázornění pohlavně a výškově specifických Z-skóre denzitometrických parametrů v podobě box plotů je uvedeno na obrázku 10.

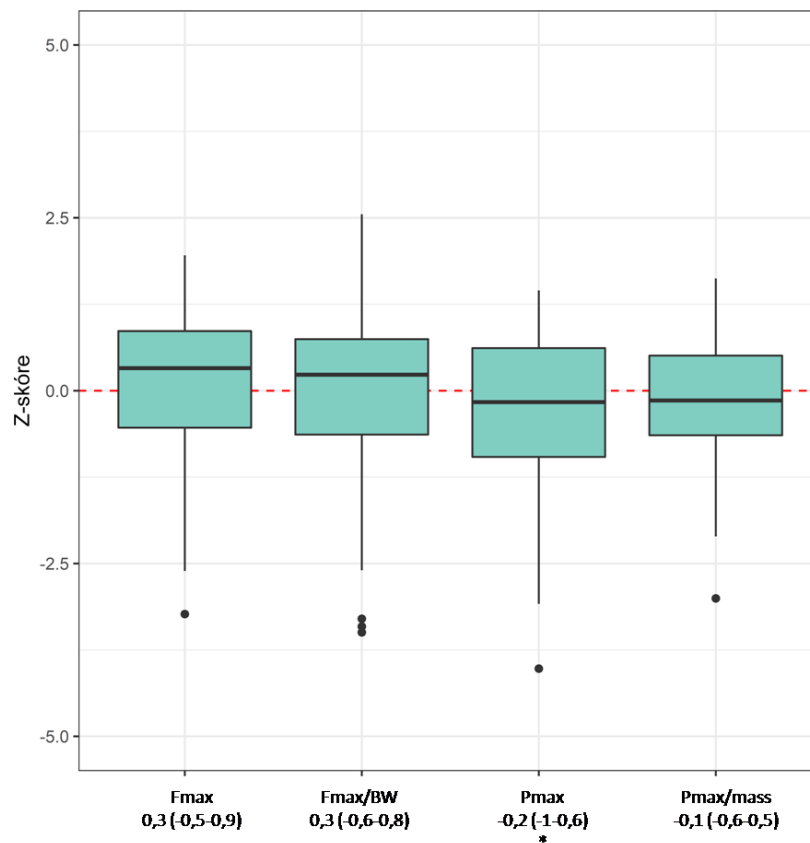


Obrázek 10 Parametry pevnosti a geometrie kosti. Box ploty znázorňují distribuci pohlavně a výškově specifických Z-skóre pacientů s IBD. Medián a interkvartilové rozpětí (IQR) jsou uvedeny pod každým box plotem. Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován za použití jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn pomocí hvězdičky: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

9.1.3. Dynamické svalové funkce

Pohlavně a výškově specifická Z-skóre klíčových parametrů dynamických svalových funkcí (P_{\max}/mass , F_{\max}/BW) se u dětí a adolescentů s IBD významně nelišila od referenční populace. Maximální svalový výkon (P_{\max}) byl sice mírně snížený ($p = 0,03$), ale po adjustaci na tělesnou hmotnost se tento rozdíl vytratil.

Podrobnější analýza neukázala rozdíl v dynamických svalových funkcích v závislosti na diagnóze. Lehce snížený ale byl P_{\max}/mass a F_{\max}/BW u dívek ($p = 0,01$, resp. $0,04$). Grafické znázornění pohlavně a výškově specifických Z-skóre dynamických svalových funkcí všech pacientů s IBD v podobě box plotů je uvedeno na obrázku 11. V tabulce 5 jsou pak uvedeny všechny parametry dynamických svalových funkcí, které jsou dále rozděleny dle pohlaví a diagnózy.



Obrázek 11 Parametry dynamických svalových funkcí. Box ploty znázorňují distribuci pohlavně a výškově specifických Z-skóre pacientů s IBD. Medián a interkvartilové rozpětí (IQR) jsou uvedeny pod každým box plotem. Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován za použití jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn pomocí hvězdičky: * $p < 0,05$.

Tabulka 4 Parametry kostní denzity a geometrie kosti, rozděleno dle pohlaví a stanovené diagnózy.

	IBD (N = 70)	Chlapci (N = 39)	Dívky (N = 31)	P _A	CD (N=53)	UC (N=17)	P _B
Celková plocha kosti (Z-skóre)	0,2 (-0,3-0,9)*	-0,1 (-0,6-0,9)	0,3 (0,1-0,8)*	-	0,2 (-0,2-0,9)*	0,0 (-0,6-0,8)	-
Kortikální CSA (Z-skóre)	-0,2 (-0,8-0,5)	-0,3 (-1,2-0,4)	0 (-0,6-0,5)	-	-0,2 (-1,0-0,5)	0,0 (-0,4-0,6)	-
Kortikální BMD (Z-skóre)	1,1 (0,4-1,9)***	1,1 (0,3-1,8)***	0,8 (0,4-1,9)***	-	0,9 (0,3-1,7)***	1,5 (0,6-2,1)***	-
Šíře kortikální kosti (Z-skóre)	-0,7 (-1,5-0,2)***	-0,6 (-1,5-0,2)***	-0,9 (-1,5-0,1)***	-	-0,9 (-1,7-0,1)***	-0,6 (-0,9-0,2)	-
Trabekulární BMD (Z-skóre)	-1,6 (-2,2-0,6)***	-1,9 (-2,8-1,1)***	-1,2 (-2,0,1)**	**	-1,8 (-2,3-0,6)***	-1,1 (-2,1-0,1)**	-
SSI (Z-skóre)	0,2 (-0,3-1,0)**	0,0 (-0,5-1,3)	0,4 (-0,2-0,7)*	-	0,2 (-0,3-0,8)*	0,5 (-0,2-1,1)	-

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou *p< 0,05, **p< 0,01, ***p<0,001. P_A ukazuje rozdíl mezi pohlavím, P_B ukazuje rozdíl mezi pacienty s CD a UC.

IBD Inflammatory Bowel Disease, CD Crohnova choroba, UC ulcerózní kolitida, CSA cross sectional area, BMD bone mineral density, SSI Stress Strain Index.

Tabulka 5 Parametry dynamických svalových funkcí, rozděleno dle pohlaví a stanovené diagnózy.

	IBD (N = 70)	Chlapci (N = 39)	Dívky (N = 31)	P _A	CD (N=53)	UC (N=17)	P _B
P _{max} (Z-skóre)	-0,2 (-1,0-0,6)*	0,0 (-0,7-0,9)	-0,4 (-1,2-0,3)*	-	-0,2 (-1,1-0,6)	-0,3 (-0,6-0,2)	-
P _{max} /mass (Z-skóre)	-0,1 (-0,6-0,5)	0,2 (-0,4-0,7)	-0,4 (-1,4-0,2)**	**	-0,2 (-0,7-0,5)	0,0 (-0,5-0,5)	-
F _{max} (Z-skóre)	0,3 (-0,5-0,9)	0,3 (-0,5-1,0)	0,2 (-0,5-0,8)	-	0,3 (-0,5-1,0)	0,6 (-0,5-0,9)	-
F _{max} /BW (Z-skóre)	0,3 (-0,6-0,8)	0,3 (-0,2-0,9)	-0,1 (-1,7-0,7)	*	0,2 (-0,9-0,8)	0,3 (-0,5-0,7)	-

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou *p< 0,05, **p< 0,01, ***p<0,001. P_A ukazuje rozdíl mezi pohlavím, P_B ukazuje rozdíl mezi pacienty s CD a UC.

IBD Inflammatory Bowel Disease, CD Crohnova choroba, UC ulcerózní kolitida, P_{max} maximální svalový výkon, P_{max}/mass relativní svalový výkon, F_{max} maximální svalová síla, F_{max}/BW relativní svalová síla.

9.1.4. Prediktory svalových funkcí a kostní denzity

Vybrané biochemické parametry byly testovány jako možné prediktory změn zaznamenaných na svalově-kostní jednotce. Korelace mezi Z-skóre dynamických svalových funkcí, denzitometrických parametrů a sérové koncentrace 25-OHD nebo PTH se nepotvrdila (tabulka 6).

Tabulka 6 Korelace mezi vybranými biochemickými parametry a Z-skóre dynamických svalových funkcí a denzitometrických parametrů.

	PTH	25-OHD
$P_{max}/mass$	-0,06	-0,098
F_{max}/BW	-0,139	0,016
Trabekulární BMD	-0,226	-0,079
SSI	-0,117	0,026

Data jsou uvedena jako korelační koeficienty. Závislou proměnou bylo Z-skóre jednotlivých denzitometrických a mechanografických parametrů. Nezávislou proměnou potom byl věk, pohlaví, délka trvání onemocnění a biochemické parametry zobrazené v prvním řádku.

$P_{max}/mass$ relativní svalový výkon, F_{max}/BW relativní svalová síla, SSI Stress Strain Index, PTH parathormon, 25-OHD 25-hydroxycholecalciferol

9.1.5. Prevalence asymptomatických vertebrálních fraktur a fraktur dlouhých kostí

U 5 pacientů (7,1 %) byla zaznamenána pozitivní anamnéza fraktur dlouhých kostí. K frakturám došlo výhradně na předloktí a to buďto v oblasti radia nebo ulny. Zkoumána byla asociace mezi pozitivní historií fraktur dlouhých kostí a vybranými denzitometrickými parametry, konkrétně trabekulární BMD a SSI. Analýza ukázala asociaci na hranici statistické signifikance pro trabekulární BMD ($p = 0,059$), pro pevnost kosti SSI se asociace nepotvrdila ($p = 0,269$).

Asymptomatické vertebrální fraktury byly hodnoceny pomocí laterogramu thorakolumbální páteře prostřednictvím semikvantitativního standardizovaného hodnocení podle Genanta. Z 65 hodnocených pacientů byla asymptomatická vertebrální fraktura zaznamenána pouze u 1 pacienta (1,5 %). Jednalo se o nejlehčí formu vertebrální fraktury (Stupeň 1), přesněji o snížení vertebrálního těla o více jak 21 %. U 18 pacientů (27,7 %) bylo zaznamenáno snížení vertebrálního těla o 10 až 20 %. Přestože dle Genantova hodnocení se jedná o snížení v mezích fyziologické variability

pro dospívající jedince, byla hodnocena možná asociace s trabekulární BMD a SSI. Ani u jednoho z vybraných parametrů se tato asociace nepotvrdila, trabekulární BMD ($p = 0,838$), SSI ($p = 0,4918$).

9.2. Studie 1 - IBD - Longitudinální studie

9.2.1. Klinická a biochemická charakteristika kohorty pacientů

Klinická charakteristika pacientů je uvedena v tabulce 7. Medián věku na začátku studie byl 13,5 roku (IQR 12,0 – 15,4 roku), v době ukončení studie 14,9 roku (IQR 13,2 – 16,5 roku). Medián věku pacientů v době diagnózy byl 11,2 roku (IQR 8,4 – 12,9 roku). Pacienti zařazení do studie byli nižšího vzrůstu v porovnání se zdravou populací ($p < 0,001$), v průběhu studie se Z-skóre tělesné výšky významně nezměnilo ($p = 0,1$). Stav výživy hodnocený prostřednictvím BMI ukázal, že na začátku studie měli 3 pacienti (5,5 %) BMI pod 3. percentilem a tedy byli v pásmu podváhy, 6 pacientů (10,9 %) mělo BMI pod 10. percentilem. V pásmu obezity s BMI nad 97. percentilem byli na počátku studie 2 pacienti (3,6 %). Rovněž v BMI nedošlo v průběhu studie k významné změně.

Na počátku studie byla kortikosteroidní terapie zaznamenána u 14 pacientů (25 %) Medián kumulativní dávky prednisolonu v posledních 12 měsících byl 31,3 mg/kg/rok (IQR 27,1 – 43,9). Počet pacientů na kortikoterapii se v průběhu studie významně snížil ($p < 0,0001$). Pouze 5 pacientů (9 %) bylo v době ukončení studie na kortikoterapii s kumulativní dávkou prednisolonu 3,9 mg/kg/rok (IQR 2,9 – 47,2). V době sledování se rovněž zvýšil počet pacientů v remisi, tento rozdíl však nebyl statisticky významný ($p = 0,084$).

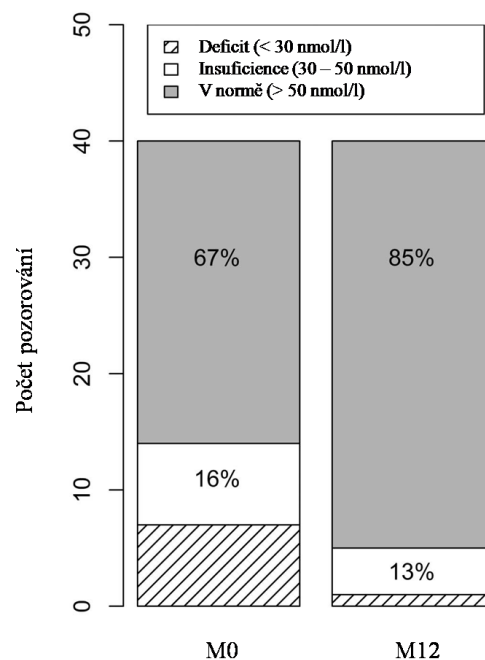
Tabulka 7 Klinické a biochemické parametry pacientů s IBD na počátku (M0) a na konci (M12) studie.

	M0	M12	Beta/OR	95 % CI	p
Věk (r)	13,5 (12,0 – 15,4)	14,9 (13,2 – 16,5)	-	-	-
Věk v době diagnózy (r)	11,2 (8,4 – 12,9)	11,2 (8,4 – 12,9)	-	-	-
Výška (Z-skóre)	-0,95 (-1,59 až 0,07)	-0,91 (-1,42 až -0,01)	0,09	-0,02 až 0,20	0,11
Hmotnost (Z-skóre)	-0,7 (-1,14 až 0,21)	-0,67 (-1,48 až 0,1)	0,021	-0,113 až 0,155	0,76
BMI (Z-skóre)	-0,3 (-0,85 až 0,33)	-0,53 (-1,15 až 0,24)	-0,035	-0,201 až 0,132	0,68
Anti-TNF terapie (%)	35 (64)	28 (51)	0,16	0,017 až 1,52	0,11
Pacienti s CS terapií v posledních 12 m (%)	14 (25)	5 (9)	0	0 až 0,008	<0,0001
Pacienti v remisi	28 (56)	31 (67)	3,76	0,84 až 16,847	0,084
PCDAI/PUCAI	5 (0 až 10)	5 (0 až 10)	-1,63	-4,315 až 1,053	0,24
CRP [mg/l]	0,65 (0,5 až 2,35)	0,5 (0,5 až 1,8)	-0,913	-2,58 až 0,755	0,28
ESR [mm/h]	14,4 (8,5 – 22,5)	11 (6,0 – 19,0)	-	-	0,001
PTH [pmol/l]	3,79 (2,99 až 5,76)	3,54 (3,09 až 4,48)	-0,297	-0,821 až 0,226	0,27
25-OHD [nmol/l]	57,63 (42,79 až 78,5)	85,2 (61,05 až 95,65)	21,75	11,636 až 31,736	<0,001

Data jsou uvedena jako medián (IQR) pro kontinuální proměnné. Kategorické proměnné jsou uvedeny jako absolutní čísla (%). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu.

IBD inflammatory bowel disease, *M0* první vyšetření na začátku studie, *M12* výstupní vyšetření, *BMI* body mass index, *TNF* tumor necrosis factor, *CS* kortikosteroidy, *PCDAI* Pediatric Crohn's Disease Index, *PUCAI* Pediatric Ulcerative Colitis Index, *CRP* C-reaktivní protein, *F-kalprotektin* fekální kalprotektin, *ESR* sedimentace, *PTH* parathormon, *25-OHD* 25-hydroxycholekalcirol

V průběhu trvání studie byli všichni pacienti na substituci 2 000/d IU cholekalciferolu, proto byla v pravidelných intervalech monitorována sérová koncentrace 25-OHD. Celkem bylo u 55 pacientů provedeno 226 měření, tzn. medián 5 měření na jednoho pacienta (rozsah mezi 4 až 6 měřeními). Výstupní sérová koncentrace 25-OHD byla změřena u 47 z 55 pacientů. Medián sérové koncentrace 25-OHD vzrostl z 57,63 nmol/l (IQR 42,79 – 78,5) na počátku studie na hodnotu 85,2 nmol/l (IQR 61,05 – 95,65) na konci studie. Substitucí dosáhlo 85 % pacientů trvale sérové koncentrace 25-OHD vyšší než 50 nmol/l, tedy doporučené koncentrace dle mezinárodního konsensu (Munns et al. 2016). Devadesát-osm procent pacientů dosáhlo sérové koncentrace 25-OHD vyšší než 30 nmol/l. V pásmu deficitu byl po substituci pouze 1 pacient (2 %). Změna v procentuálním zastoupení pacientů s normální, insuficientní a deficientní sérovou koncentrací 25-OHD na začátku a na konci studie je uvedena na obrázku 12. Prostřednictvím lineárního smíšeného modelu byla rovněž prokázána asociace mezi každodenní perorální substitucí cholekalciferolem a sérovou koncentrací 25-OHD ($p < 0,001$).

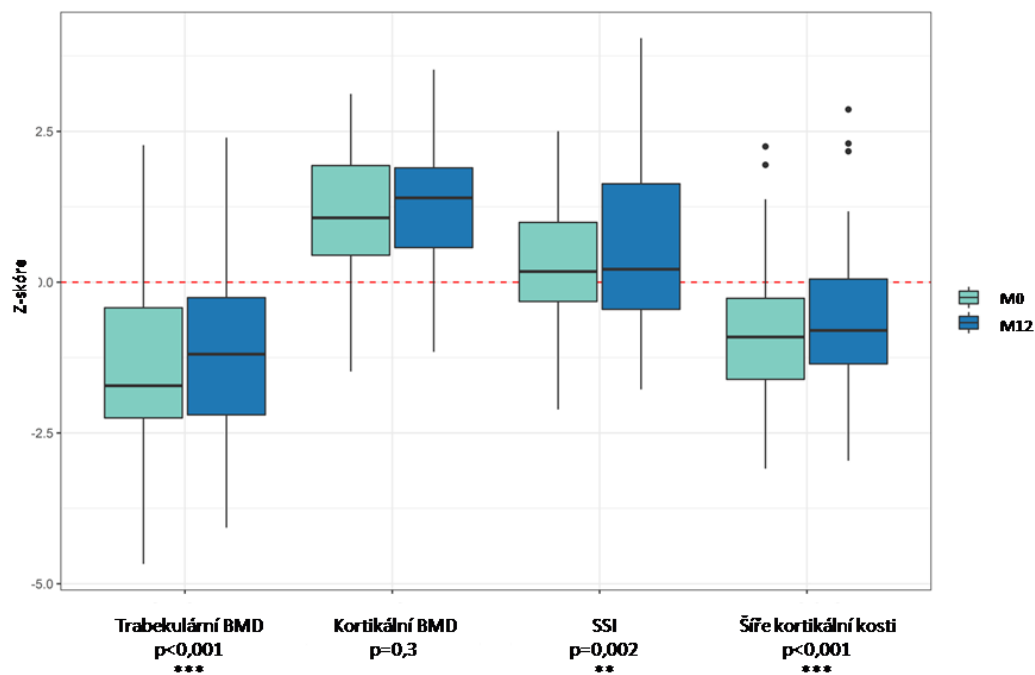


Obrázek 12 Rozdíl v zastoupení pacientů s normální, insuficientní a deficientní sérovou koncentrací 25-OHD na začátku a na konci studie, tedy po suplementaci 2 000 IU/den cholekalciferolu (zobrazení pouze párových měření, N = 40).

9.2.2. Pevnost a geometrie kosti

Na začátku studie byla pohlavně a výškově specifická Z-skóre trabekulární BMD, šíře a plochy kortikální kosti signifikantně snižená ve srovnání s referenčními údaji ($p < 0,001$ resp. $p < 0,001$ a $p = 0,035$). Z-skóre celkové plochy kosti a indexu pevnosti kosti SSI se na počátku studie významně nelišily od zdravé populace. U všech výše zmíněných denzitometrických parametrů bylo při poslední kontrole zaznamenáno signifikantní zlepšení (viz tabulka 8). Výjimku tvořilo pouze Z-skóre BMD kortikální kosti, které bylo významně zvýšené ($p < 0,001$) již na počátku studie a zůstalo bez významných změn.

Grafické znázornění pohlavně a výškově specifických Z-skóre denzitometrických parametrů v podobě box plotů je uvedeno na obrázku 13.

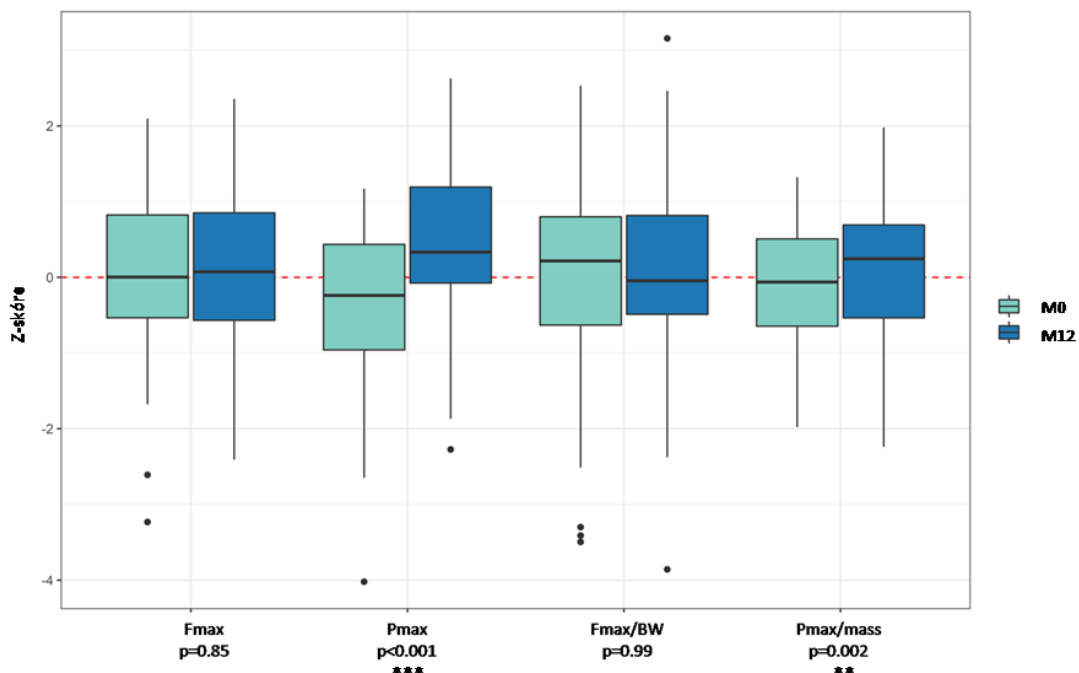


Obrázek 13 Parametry pevnosti a geometrie kosti a jejich změny v průběhu studie. Box ploty znázorňují distribuci pohlavně a výškově specifických Z-skóre pacientů s IBD. Statisticky signifikantní rozdíl mezi vstupní (M0) a výstupní (M12) kontrolou je znázorněn pomocí hvězdičky: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

9.2.3. Svalové funkce

Na počátku studie byl jediným významně sníženým parametrem dynamických svalových funkcí P_{\max} ($p = 0,018$), na konci studie bylo zaznamenáno významné zlepšení věkově a výškově specifického Z-skóre jak P_{\max} ($p < 0,001$), tak relativního parametru adjustovaného na tělesnou hmotnost P_{\max}/mass ($p = 0,002$). Parametry svalové síly F_{\max} a F_{\max}/BW se od zdravé populace významně nelišily a s koncem studie zůstaly bez významné změny. Výstupní mechanografické vyšetření proběhlo u 54 z celkových 55 pacientů. Jedna pacientka nebyla vyšetření schopna z důvodu akutního zhoršení zdravotního stavu. Z-skóre dynamických svalových funkcí na počátku a na konci studie jsou uvedena v tabulce 9.

Grafické znázornění pohlavně a výškově specifických Z-skóre mechanografických parametrů v podobě box plotů je uvedeno na obrázku 14.



Obrázek 14 Parametry dynamických svalových funkcí a jejich změny v průběhu studie. Box ploty znázorňují distribuci pohlavně a výškově specifických Z-skóre pacientů s IBD. Statisticky signifikantní rozdíl mezi vstupní (M0) a výstupní (M12) kontrolou je znázorněn pomocí hvězdičky: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Tabulka 8 Parametry kostní denzity, geometrie kosti a jejich změny v průběhu studie.

	M0	M12	Beta/OR	95 % CI	p
Celková plocha kosti (Z-skóre)	0,15 (-0,33 až 0,67)	0,35 (-0,31 až 1,34)	0,32	0,146 až 0,484	0,001
Kortikální CSA (Z-skóre)	-0,3 (-1,01 až 0,25)*	0,04 (-0,69 až 0,91)	0,55	0,384 až 0,705	< 0,001
Kortikální BMD (Z-skóre)	1,07 (0,45 až 1,93)***	1,4 (0,57 až 1,9)	0,12	-0,102 až 0,334	0,30
Šíře kortikální kosti (Z-skóre)	-0,91 (-1,61 až -0,27)***	-0,8 (-1,35 až 0,05)	0,23	0,144 až 0,453	< 0,001
Trabekulární BMD (Z-skóre)	-1,72 (-2,25 až -0,42)***	-1,19 (-2,2 až -0,26)	0,26	0,137 až 0,38	< 0,001
SSI (Z-skóre)	0,18 (-0,32 až 0,99)	0,22 (-0,45 až 1,63)	0,36	0,135 až 0,574	0,002

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

M0 první vyšetření na začátku studie, *M12* výstupní vyšetření, *CSA* cross sectional area, *BMD* bone mineral density, *SSI* Stress Strain Index

Tabulka 9 Parametry dynamických svalových funkcí a jejich změny v průběhu studie.

	M0	M12	Beta/OR	95 % CI	p
P_{max} (Z-skóre)	-0,24 (-0,96 až 0,44)**	0,33 (-0,07 až 1,19)	0,79	0,542 až 1,035	< 0,001
$P_{max}/mass$ (Z-skóre)	-0,06 (-0,65 až 0,51)	0,24 (-0,54 až 0,69)	0,28	0,11 až 0,459	0,002
F_{max} (Z-skóre)	0 (-0,53 až 0,82)	0,07 (-0,57 až 0,85)	-0,016	- 0,172 až 0,141	0,85
F_{max}/BW (Z-skóre)	0,22 (-0,63 až 0,8)	-0,05 (-0,49 až 0,82)	0,002	- 0,206 až 0,209	0,99

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou ** $p < 0,01$.

M0 první vyšetření na začátku studie, *M12* výstupní vyšetření, P_{max} maximální svalový výkon, $P_{max}/mass$ relativní svalový výkon, F_{max} maximální svalová síla, F_{max}/BW relativní svalová síla.

9.2.4. Prediktory dynamických svalových funkcí a kvality kosti

Za použití výše popsaných statistických metod byly zkonstruovány modely pro určení nezávislých prediktorů denzitometrických parametrů a parametrů dynamických svalových funkcí. Jako významný prediktor se ukázala substituce vitamínem D. Substituce cholekalciferolem byla pozitivně asociována jak se Z-skóre P_{max} a $P_{max}/mass$ (beta 0,60, 95 % CI 0,32 – 0,85, $p < 0,0001$ a beta 0,20, 95 % CI 0,029 – 0,37, $p = 0,043$), tak se Z-skóre trabekulární BMD (beta 0,26, 95 % CI 0,14 – 0,37, $p < 0,0001$). Asociace mezi Z-skóre P_{max} a $P_{max}/mass$ i Z-skóre trabekulární BMD a substitucí cholekalciferolem byla nezávislá na sérových koncentracích 25-OHD.

Substituce vitamínem D naopak nepředstavovala významný prediktor pro Z-skóre indexu pevnosti kosti SSI ani pro Z-skóre F_{max} a F_{max}/BW . Modely pro predikci dynamických svalových funkcí a denzitometrických parametrů jsou uvedeny v tabulkách 10 a 11.

Tabulka 10 Prediktory pevnosti kosti.

	Estimate	95 % CI	p
Trabekulární BMD (Z-skóre)			
Substituce cholekalciferolem	0,26	0,14 až 0,37	< 0,00001
SSI (Z-skóre)			
F_{max}/BW (Z-skóre)	0,29	0,10 až 0,45	0,0013
P_{max} (Z-skóre)	0,57	0,36 až 0,78	< 0,00001
$P_{max}/mass$ (Z-skóre)	-0,42	-0,76 až 0,10	0,016
Věk na začátku studie	-0,21	-0,29 až 0,11	< 0,00001

Prediktory byly vybrány na základě Akaikova informačního kritéria, za použití automatické zpětné eliminace všech efektů lineárního smíšeného modelu. Věk na začátku studie (bod M0), délka trvání léčby onemocnění v bodě M0, diagnóza (CD nebo UC), kortikosteroidní léčba v posledních 12 měsících, suplementace cholekalciferolem (ano/ne), délka trvání substituce cholekalciferolem, remise (definována jako PUCAI < 10 bodů u pacientů s UC a PCDAI < 10 bodů v kombinaci s CRP < 5 mg/l u pacientů s CD), dynamické svalové funkce (Z-skóre P_{max} , $P_{max}/mass$, F_{max} , F_{max}/BW) a Z-skóre SSI a trabekulární BMD byly použity jako prediktory v úvodním smíšeném modelu mnohonásobné regrese (předtím, než proběhla selekce vysvětlujících proměnných).

BMD kostní denzita, *SSI* Stress Strain Index, *F_{max}/BW* relativní svalová síla, *P_{max}* maximální svalový výkon, *$P_{max}/mass$* relativní svalový výkon

Tabulka 11 Prediktory dynamických svalových funkcí.

	Estimate	95 % CI	p
P_{max} (Z-skóre)			
Substituce cholekalciferolem (ano)	0,60	0,32 až 0,85	< 0,0001
Remise (ano)	0,64	0,23 až 1,02	0,0025
SSI (Z-skóre)	0,37	0,19 až 0,55	0,0001
$P_{max}/mass$ (Z-skóre)			
Substituce cholekalciferolem (ano)	0,20	0,029 až 0,37	0,043
Remise (ano)	0,55	0,22 až 0,87	0,0007
SSI (Z-skóre)	0,16	0,0093 až 0,29	0,030
F_{max} (Z-skóre)			
Trabekulární BMD (Z-skóre)	0,28	0,16 až 0,41	0,0001
SSI (Z-skóre)	0,16	0,019 až 0,30	0,035
Věk na začátku studie	0,093	0,014 až 0,16	0,021
F_{max}/BW (Z-skóre)			
SSI (Z-skóre)	0,26	0,097 až 0,44	0,0065
Věk na začátku studie	0,19	0,081 až 0,30	0,0014

Prediktory byly vybrány na základě Akaikeho informačního kritéria, za použití automatické zpětné eliminace všech efektů lineárního smíšeného modelu. Věk na začátku studie (bod M0), délka trvání léčby onemocnění v bodě M0, diagnóza (CD nebo UC), kortikosteroidní léčba v posledních 12 měsících, suplementace cholekalciferolem (ano/ne), délka trvání substituce cholekalciferolem, remise (definována jako PUCAI < 10 bodů u pacientů s UC a PCDAI < 10 bodů v kombinaci s CRP < 5 mg/l u pacientů s CD), Z-skóre trabekulární BMD a SSI byly použity jako prediktory v úvodním smíšeném modelu několikanásobné regrese (předtím, než proběhla selekce vysvětlujících proměnných).

BMD kostní denzita, *SSI* Stress Strain Index, F_{max} maximální svalová síla, F_{max}/BW relativní svalová síla, P_{max} maximální svalový výkon, $P_{max}/mass$ relativní svalový výkon

Protože Z-skóre trabekulární BMD, P_{max} i $P_{max}/mass$ bylo pozitivně asociováno se substitucí vitamínem D, pokusili jsme se o identifikaci pacientů, kteří by ze substituce nejvíce profitovali. V průběhu studie došlo ke zlepšení Z-skóre $P_{max}/mass$ u 37 pacientů (69 %), Z-skóre trabekulární BMD se vylepšilo u 40 pacientů (73 %). Z celé kohorty se Z-skóre $P_{max}/mass$ ani trabekulární BMD nezlepšilo pouze u 3 pacientů (5 %). Pro vytvoření predikce pacientů benefitujících ze substituce vitamínem D byla skupina pacientů, u nichž nedošlo k vylepšení výše uvedených parametrů příliš malá. Z toho důvodu jsme se soustředili na prediktory, které by mohly identifikovat pacienty, u nichž došlo k nejvýznamnějším změnám v mechanografických a denzitometrických parametrech.

Jako prediktory byly testovány parametry zaznamenané na počátku studie v bodě M0 (denzitometrické, mechanografické a antropometrické parametry a dále sérová koncentrace 25-OHD). V modelu adjustovaném na pohlaví, věk, diagnózu a délku trvání substituce cholekalciferolem se jako jediný negativní prediktor změny Z-skóre

trabekulární BMD ukázalo Z-skóre trabekulární BMD na počátku studie (beta -0,1, 95 % CI - 0,19 až -0,01, p = 0,031). Podobně bylo negativním prediktorem změny Z-skóre P_{\max}/mass se ve stejném typu modelu Z-skóre P_{\max}/mass na začátku studie (beta -0,31, 95 % CI -0,52 až -0,01, p = 0,005).

9.3. Studie 2 - DM1

9.3.1. Klinická a biochemická charakteristika kohorty pacientů

Medián věku pacientů byl 16,4 (IQR 2,1) roku s mediánem délky trvání onemocnění 9,7 (IQR 8,3) roku. Dle délky trvání léčby byli pacienti rozděleni do dvou skupin: krátkodobě léčení pacienti (délka trvání onemocnění méně než 6 let) a dlouhodobě léčení pacienti (délka trvání onemocnění více než 9 let). Do krátkodobě léčené skupiny bylo zahrnuto 49 pacientů (51,6 %). Mezi skupinou krátkodobě a dlouhodobě léčených pacientů nebyl s výjimkou věku v době diagnózy a délky onemocnění zaznamenán významný rozdíl v žádném ze sledovaných klinických nebo biochemických parametrů (tabulka 12).

Při porovnání s národními referenčními údaji byli pacienti s DM1 zařazení do studie normálního vzrůstu, ale vyšší hmotnosti (p < 0,001). Stav výživy hodnocený prostřednictvím BMI ukázal, že 17 pacientů (17,9 %) mělo BMI nad 97. percentilem a splňovalo tedy kritéria obezity a 11 pacientů (11,6 %) mělo nadváhu s BMI mezi 90. a 97. percentilem. Dívky měly ve srovnání s chlapci vyšší hmotnost a rovněž jejich Z-skóre pro BMI bylo vyšší (p < 0,05 v obou případech). Ze 36 zařazených dívek byly pouze 2 (5,6 %) premenarcheální. Medián věku v době menarche byl 13,0 (IQR 1,7) roku. Fraktura v oblasti dlouhých kostí byla přítomna v anamnéze 12 pacientů (12,6 %), všechny zaznamenané fraktury byly výsledkem zranění s odpovídajícím mechanismem úrazu.

Z celkového počtu 95 pacientů bylo 35 pacientů (37 %) na léčbě pomocí inzulínové pumpy, zatímco 60 pacientů (63 %) bylo léčeno prostřednictvím denních inzulínových injekcí. Mezi dlouhodobě a krátkodobě léčenými pacienty nebyl rozdíl v denní dávce inzulínu ani v sérové koncentraci HbA1c, PTH a 25-OHD. Sérová koncentrace PTH byla zvýšená pouze u jednoho pacienta, u ostatních byla v mezích normy. Dle

mezinárodního konsensu o vitaminu D (Munns et al. 2016) bylo 6 pacientů (6,5 %) deficientních pro vitamin D (25-OHD < 30 nmol/l), 33 pacientů bylo insuficientních (25-OHD mezi 30 a 50 nmol/l) a 53 pacientů (57,6 %) mělo sérovou koncentraci 25-OHD v mezích normy (> 50 nmol/l).

Tabulka 12 Klinické a biochemické parametry pacientů s DM1 rozdělené dle pohlaví a délky trvání onemocnění.

	DM1 (N = 95)	Ženy (N = 36)	Chlapci (N = 59)	p-hodnota^A	Krátkodobě léčení p. (N=46)	Dlouhodobě léčení p. (N=49)	p-hodnota^B
Věk (r)	16,4 (2,1)	16,5 (2,7)	16,4 (1,8)	0,8	16,2 (2,3)	16,7 (1,5)	0,1
Věk v době diagnózy	8,8 (8,7)	10,2 (8,7)	7,2 (8,6)	0,3	13,1 (2,4)	4,5 (3,0)	<0,001
Délka trvání DM1	9,7 (8,3)	5,3 (8,6)	10,1 (8,4)	0,3	3,5 (2,5)	11,8 (2,6)	<0,001
Výška (Z-skóre)	0,0 (1,0)	0,0 (1,0)	0,0 (0,9)	0,9	-0,2 (1,3)	0,1 (0,8)	0,3
Hmotnost (Z-skóre)	0,5 (1,6)***	0,7 (1,6)***	0,2 (1,6)**	0,04	0,5 (1,5)***	0,4 (1,6)***	1
BMI (Z-skóre)	0,7 (1,6)***	1,0 (1,7)***	0,6 (1,7)***	0,04	0,7 (1,6)***	0,7 (1,5)***	0,5
HbA1c [mmol/mol]	69,6 (16,9)	69,1 (18,2)	69,8 (16,3)	1	67,2 (14,0)	71,9 (18,6)	0,07
Dávka inzulínu [IU/kg/d]	0,8 (0,2)	0,9 (0,2)	0,8 (0,2)	0,7	0,8 (0,3)	0,9 (0,2)	0,3
PTH [pmol/l]	3,4 (1,7)	3,4 (1,3)	3,6 (2,7)	0,09	3,4 (1,4)	3,7 (2,5)	0,1
25-OHD [nmol/l]	52,1 (26,7)	52,7 (31,7)	52,1 (21,4)	0,9	54,1 (25,1)	49,8 (27,5)	0,4

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Dvouvýběrový t-test s Welchovou aproximací byl použit pro stanovení rozdílu mezi dvěma skupinami. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou *p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001. P-hodnota^A představuje rozdíl mezi pohlavími. P-hodnota^B představuje rozdíl mezi skupinami v závislosti na délce trvání onemocnění.

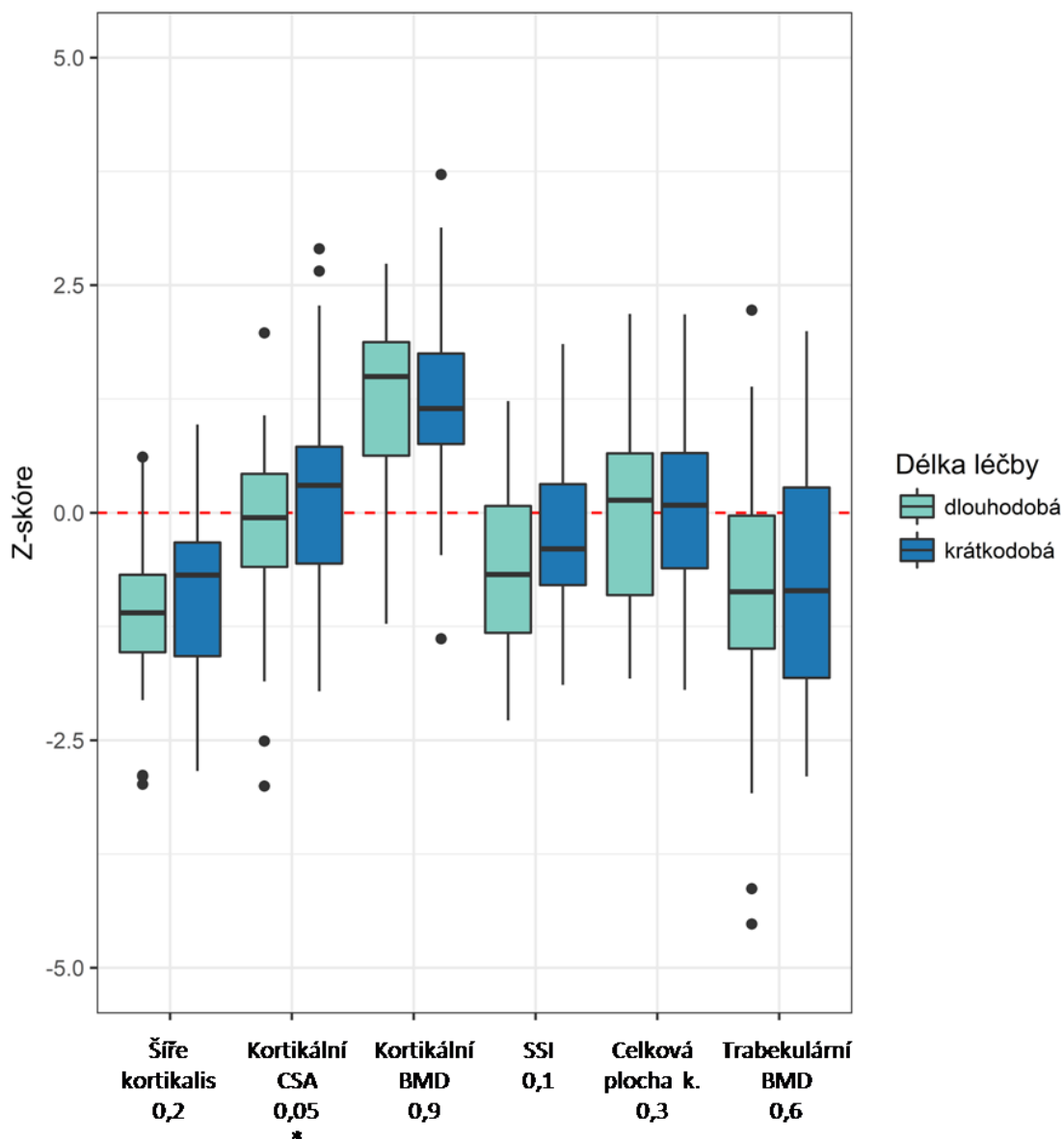
DM1 diabetes mellitus 1. typu, *BMI* body mass index, *PTH* parathormon, *25-OHD* 25-hydroxycholecalciferol

9.3.2. Pevnost a geometrie kosti

Pohlavně a výškově specifická Z-skóre trabekulární BMD ($p < 0,001$), šíře kortikální kosti ($p < 0,001$) a indexu pevnosti kosti SSI ($p < 0,001$) byla u pacientů s DM1 signifikantně snižena ve srovnání se zdravou populací. Naopak BMD kortikální kosti ($p < 0,001$) byla signifikantně vyšší. Parametry celkové a kortikální plochy kosti se u pacientů s DM1 významně nelišily od zdravé populace ($p = 1$, resp. $p = 0,8$). Ve srovnání s dívkami byla u chlapců zaznamenána nižší trabekulární BMD, pevnost kosti SSI a šíře kortikální kosti (tabulka 13).

Analyzován byl rovněž vliv délky trvání onemocnění na změny v denzitometrických parametrech pomocí lineární regrese. Tato analýza ukázala, že všechny pozorované změny ve struktuře a geometrii kosti byly nezávislé na délce trvání onemocnění.

Grafické znázornění pohlavně a výškově specifických Z-skóre denzitometrických parametrů v podobě box plotů je uvedeno na obrázku 15.



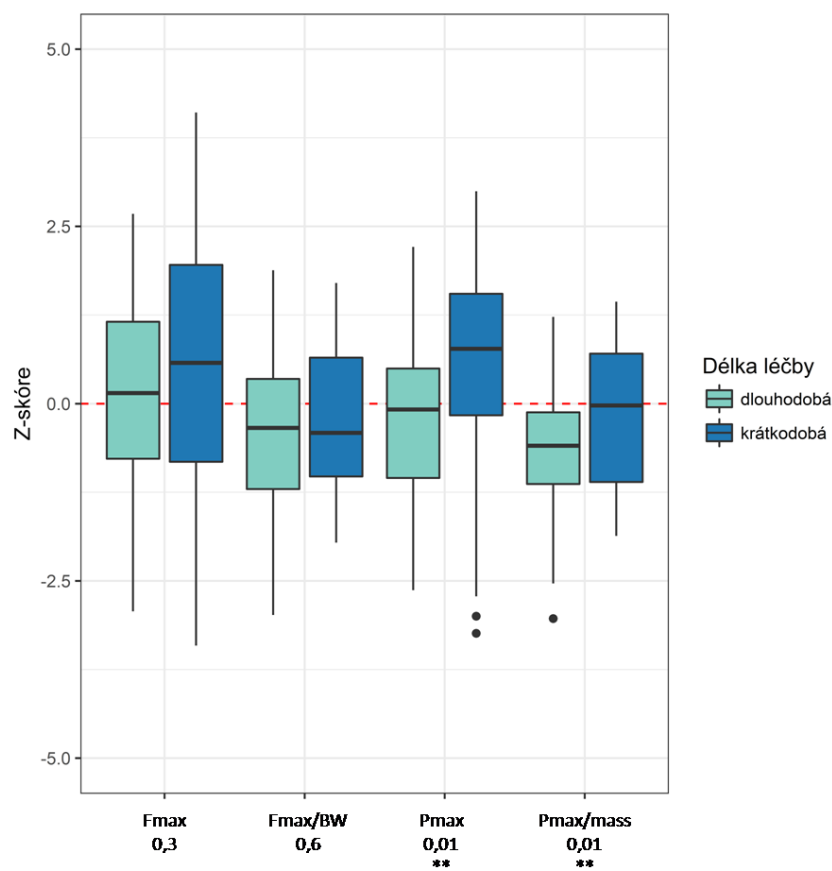
Obrázek 15 Denzitometrické parametry u dětí a adolescentů s DM1. Box ploty znázorňují distribuci pohlavně a výškově specifických Z-skóre. Statisticky významný rozdíl mezi krátkodobě a dlouhodobě léčenou skupinou pacientů je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$.

9.3.3. Dynamické svalové funkce

Pohlavně a výškově specifická Z-skóre pro P_{\max} a F_{\max} se u pacientů s DM1 významně nelišila od zdravé normy ($p = 0,4$, resp. $p = 0,09$). Naopak Z-skóre parametrů relativních svalových funkcí, tedy relativního svalového výkonu (P_{\max}/mass) a síly (F_{\max}/BW), byla významně snížena ve srovnání se zdravou populací ($p < 0,001$, resp. $p = 0,01$). Vzhledem k tomu, že u pacientů participujících na studii bylo zaznamenáno zvýšené

BMI, představují relativní parametry adjustované na hmotnost měřeného jedince vhodnější způsob hodnocení svalových funkcí. Vlivem délky onemocnění na dynamické svalové funkce se zabývala podrobnější analýza, která ukázala snížené hodnoty Z-skóre P_{\max}/mass a F_{\max}/BW pouze u skupiny dlouhodobě léčených pacientů. Statisticky významný rozdíl v Z-skóre mezi pohlavími nebyl zaznamenán. Klíčové parametry dynamických svalových funkcí jsou shrnuty v tabulce 14.

Grafické znázornění pohlavně a výškově specifických Z-skóre mechanografických parametrů v podobě box plotů je uvedeno na obrázku 16.



Obrázek 16 Parametry dynamických svalových funkcí u dětí a adolescentů s DM1. Box ploty znázorňují distribuci pohlavně a výškově specifických Z-skóre. Statisticky signifikantní rozdíl mezi krátkodobě a dlouhodobě léčenou skupinou pacientů je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$.

Tabulka 13 Parametry pevnosti a geometrie kosti u pacientů s DM1.

	DM1 (N = 95)	Dívky (N = 36)	Chlapci (N = 59)	p-hodnota ^A	Krátkodobě léčení p. (N=46)	Dlouhodobě léčení p. (N=49)	p-hodnota ^B
Celková plocha kosti (Z-skóre)	0,1 (1,3)	0,2 (1,3)	0,0 (1,3)	0,4	0,1 (1,3)	0,1 (1,6)	0,3
Kortikální CSA (Z-skóre)	0,1 (1,3)	0,3 (1,2)	0,0 (1,3)	0,1	0,3 (1,3)	-0,1 (1,0)	0,05
Kortikální BMD (Z-skóre)	1,4 (1,1)***	1,5 (1,0)***	1,2 (1,3)***	0,4	1,1 (1,0)***	1,5 (1,2)***	0,9
Šíře kortikální kosti (Z-skóre)	-1,1 (1,1) ***	-0,6 (0,8)***	-1,4 (1,1)***	<0,01	-0,7 (1,3)***	-1,1 (0,9)***	0,2
Trabekulární BMD (Z-skóre)	-0,9 (1,7)***	-0,2 (1,6)	-1,1 (1,3)***	0,01	-0,9 (2,1)***	-0,9 (1,5)***	0,6
SSI (Z-skóre)	-0,4 (1,2)***	-0,2 (1,0)	-0,8 (1,4)***	<0,01	-0,4 (1,1)**	-0,7 (1,4)***	0,1

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Dvouvýběrový t-test s Welchovou aproximací byl použit pro stanovení rozdílu mezi dvěma skupinami. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$. P-hodnota^A představuje rozdíl mezi pohlavími. P-hodnota^B představuje rozdíl mezi skupinami v závislosti na délce trvání onemocnění.

DM1 diabetes 1. typu, CSA cross-sectional area, BMD bone mineral density, SSI stress strain index.

Tabulka 14 Parametry dynamických svalových funkcí u pacientů s DM1.

	DM1 (N = 95)	Dívky (N = 36)	Chlapci (N = 59)	p-hodnota ^A	Krátkodobě léčení p. (N=46)	Dlouhodobě léčení p. (N=49)	p-hodnota ^B
P_{max} (Z-skóre)	0,3 (1,8)	0,4 (1,0)	0,1 (2,2)	1,1	0,8 (1,9)*	-0,1 (1,5)	0,01
$P_{max}/mass$ (Z-skóre)	-0,4 (1,6)***	-0,5 (1,5)**	-0,3 (1,6)**	0,4	0,0 (1,8)	-0,6 (1,0)***	0,01
F_{max} (Z-skóre)	0,3 (2,4)	0,4 (1,6)	0,1 (2,6)	0,6	0,6 (2,9)	0,1 (1,9)	0,3
F_{max}/BW (Z-skóre)	-0,3 (1,6)**	-0,4 (1,4)	-0,3 (1,8)	0,9	-0,4 (1,7)	-0,3 (1,6)*	0,6

Data jsou uvedena jako medián (IQR). Rozdíl Z-skóre od 0 byl testován pomocí jednovýběrového t-testu. Dvouvýběrový t-test s Welchovou aproximací byl použit pro stanovení rozdílu mezi dvěma skupinami. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$. P-hodnota^A představuje rozdíl mezi pohlavími. P-hodnota^B představuje rozdíl mezi skupinami v závislosti na délce trvání onemocnění.

DM1 diabetes 1. typu P_{max} maximální svalový výkon, $P_{max}/mass$ relativní svalový výkon, F_{max} maximální svalová síla, F_{max}/BW relativní svalová síla

9.3.4. Asociace mezi biochemickými a denzitometrickými a mechanografickými parametry

Možné asociace mezi vybranými biochemickými parametry a Z-skóre mechanografických nebo denzitometrických parametrů adjustovaných na pohlaví a délku trvání onemocnění byla testována prostřednictvím regresní analýzy. Jak je patrné z regresních koeficientů uvedených v tabulce 15, byla zaznamenána negativní asociace mezi PTH a kortikální nebo trabekulární BMD. Naopak HbA1c bylo pozitivně asociováno pouze s F_{max} . Zde je však nutno podotknout, že příčinou této asociace může být zvýšená hmotnost pacientů s DM1 v naší kohortě, protože F_{max} je silně závislé na hmotnosti měřeného pacienta. Tento předpoklad podporuje i fakt, že nebyla nalezena asociace s F_{max}/BW , tedy právě s parametrem adjustovaným na hmotnost. Dalším testovaným biochemickým parametrem byla sérová koncentrace 25-OHD, která nebyla asociována s žádným z denzitometrických ani mechanografických parametrů.

Tabulka 15 Asociace mezi vybranými biochemickými parametry a Z-skóre mechanografických nebo denzitometrických parametrů u pacientů s DM1.

	PTH	25-OHD	HbA1c
P_{max}	-0,1013	0,0096	0,0192
$P_{max}/mass$	-0,0030	0,0042	0,0010
F_{max}	-0,1043	0,0052	0,0340**
F_{max}/BW	0,0087	-0,0029	0,0129
Celková plocha kosti	0,0231	-0,0025	0,0061
Plocha kortikální kosti CSA	-0,1411	0,0057	0,0067
Kortikální BMD	-0,1677*	-0,0010	0,0028
Šíře kortikální kosti	-0,1032	0,0050	0,0030
SSI	0,0162	-0,0025	0,0065
Trabekulární BMD	-0,2992**	0,0097	0,0076

Data jsou regresní koeficienty. Závislé proměnné jsou Z-skóre jednotlivých mechanografických a denzitometrických parametrů uvedených v prvním sloupci. Nezávislými proměnnými je pohlaví, délka trvání onemocnění a biochemické parametry uvedené v prvním řádku. Statisticky signifikantní rozdíl je znázorněn hvězdičkou * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$

DM1 diabetes 1. typu, BMD kostní denzita, SSI Stress Strain Index, F_{max} maximální svalová síla, F_{max}/BW relativní svalová síla, P_{max} maximální svalový výkon, $P_{max}/mass$ relativní svalový výkon, PTH parathormon, 25-OHD 25-hydroxycholecalciferol, HbA1c glykovaný hemoglobin.

10. DISKUSE

Dětství a adolescence jsou zásadní periodou pro vývoj skeletu. Jeho narušení v tomto období, ať už působením chronického onemocnění nebo vlivem léčby, představuje rizikový faktor pro snížení kostní denzity a rozvoj osteoporózy v dospělosti. Vzhledem k úzké provázanosti muskulo-skeletálního systému je pro hodnocení etiopatogeneze snížené BMD, resp. osteoporózy zásadní analýza nejen kostní denzity, ale také svalového systému.

Ke zhodnocení kostní denzity je možno použít metodu DXA nebo pQCT. Obě tyto metody jsou navzájem komplementární, mají unikátní výhody i limitace dané svými technickými charakteristikami. Mezi hlavní výhody pQCT, která byla využita při řešení této práce, patří zejména nezávislost analyzovaných parametrů kostní denzity a geometrie kosti na výšce pacienta, což eliminuje riziko výsledku falešně snížené BMD u pacientů s poruchou růstu; pokud bychom využili DXA bez adjustace na tělesnou výšku, mohlo by dojít k falešné diagnóze osteoporózy. Post hoc kalkulace výsledků DXA podle výšky pacienta však není standardizována. Zatímco výstupem DXA je plošná BMD, pQCT umožňuje měření BMD ve 3D prostoru, lze tedy rozlišovat mezi jednotlivými kompartmenty kosti (trabekulární a kortikální BMD), ale také hodnotit geometrii kosti a potažmo její adaptaci na svalovou zátěž. Přestože rozvoj svalového systému lze aproximovat prostřednictvím široké škály metod (antropometrie, zobrazovací metody, bioelektrická impedance), měření dynamických svalových funkcí prostřednictvím mechanografie se jeví jako nejvíce relevantní pro odhad svalových funkcí. Tato metoda umožňuje měření jak maximální tak relativní (adjustované na tíhovou sílu) svalové síly a výkonu, je vhodná pro měření svalových funkcí u dětí. Je založena na vykonávání jednoduchých, dětem vlastních pohybů (výskok) a nezávisí na okamžité motivaci pacienta či jeho zkušenostech s touto metodou.

10.1. Muskuloskeletální systém u pacientů s IBD

V této studii jsme prokázali, že dynamické svalové funkce jsou u dětí a adolescentů s IBD v mezích normy, zatímco denzitometrické parametry jako je trabekulární BMD, šíře kortikální kosti nebo celková plocha kosti jsou signifikantně snížené. To naznačuje, že snížená kostní denzita a změny v geometrii kosti vznikají spíše v důsledku vlastního

onemocnění, nikoliv vlivem nedostatečné stimulace kosterním svalstvem. Po substituci 2000 IU/d cholekalciferolu došlo ke zlepšení parametrů svalového výkonu a densitometrických parametrů jako je trabekulární BMD. Naopak kortikální BMD zůstala i po substituci nezměněna.

Parametry dynamických svalových funkcí se u naší skupiny pacientů s výjimkou Z-skóre P_{\max} významně nelišily od referenčních údajů. Co více, při zohlednění tělesné hmotnosti pacienta snížení P_{\max} ztratilo na významnosti. Ztráta této významnosti je v souladu s naším předpokladem, že relativní parametry dynamických svalových funkcí, tedy parametry adjustované na tělesnou hmotnost poskytují, zejména u svalových skupin ovlivněných tíhovou silou jedince, přesnější představu o stavu svalového systému ve srovnání s absolutními hodnotami. Otázkou stavu svalového systému a svalové síly u dětských pacientů s IBD se zapoužití ručního dynamometru do současné doby zabývaly pouze tři studie (Bechtold et al. 2010; Werkstetter et al. 2012; Werkstetter et al. 2013). Ve srovnání s našimi výsledky tyto studie zaznamenaly sníženou isometrickou sílu stisku. Tyto rozdíly v zaznamenaných výsledcích však připisujeme použití odlišné metodologie.

Studie využívající zobrazovacích metod k hodnocení muskuloskeletálního stavu dětí a adolescentů s IBD zaznamenaly deficit lean mass, a to zejména u pacientů s CD (Dubner et al. 2009; Thayu et al. 2010; Burnham et al. 2004; Burnham et al. 2005; Mager et al. 2018). Zdá se, že tento deficit je významný zejména v době manifestace onemocnění (Mager et al. 2018; Bechtold et al. 2010; Dubner et al. 2009; Werkstetter et al. 2013), postupně však dochází k jeho zlepšení. Z části lze toto zlepšení připsat také zlepšení stavu výživy a snížení aktivity onemocnění (Werkstetter et al. 2013). Dalším faktorem, který je spojován s narušením muskuloskeletálních funkcí u pacientů s IBD je zvýšená produkce prozánětlivých cytokinů jako je IL-6, IL-1, nebo TNF- α , které mohou negativně ovlivňovat anabolickou dráhu IGF-1/Akt.

V literatuře bylo u dětí (Griffin et al. 2015) popsáno zlepšení svalové hmoty a u dospělých jedinců (Subramaniam et al. 2015) dokonce nárůst svalové síly na anti-TNF terapii infliximabem. Popsán byl rovněž protektivní vliv anti-TNF terapie na minerální metabolismus u pacientů s CD (Augustine et al. 2014). V naší studii se nepodařilo prokázat pozitivní efekt anti-TNF terapie na muskuloskeletální systém

u dětských pacientů s IBD. Zde je však nutno podotknout, že studie nebyla primárně navržena s tímto cílem, který by vyžadoval jiný protokol s prospektivním designem a odlišným výběrem pacientů.

Denzitometrické parametry hodnocené prostřednictvím pQCT byly u naší skupiny pacientů ve srovnání s referenčními údaji alterované. Pozorovali jsme sníženou trabekulární BMD a šíři kortikální kosti, zatímco kortikální BMD byla zvýšená. Tyto výsledky jsou v souladu s již dříve publikovanými studiemi, které prokázaly sníženou plošnou BMD v porovnání se zdravou populací (Laakso et al. 2014; Ward et al. 2010). V souladu s našimi výsledky byla rovněž zaznamenána snížená trabekulární BMD (Bechtold et al. 2010; Dubner et al. 2009; Tsampalieros et al. 2014; Griffin et al. 2015) a normální (Dubner et al. 2009) nebo zvýšená kortikální BMD (Bechtold et al. 2010). Příčinou zaznamenaných změn v denzitometrických parametrech je velice pravděpodobně alterace v obratu kostní tkáně. Snížená intrakortikální remodelace zřejmě vede ke snížení porosity kortikální kosti. Vzhledem k tomu, že v naší studii byly rovněž zaznamenány normální dynamické svalové funkce a dle dříve publikovaných výsledků se míra fyzické aktivity mezi pacienty s IBD a zdravou kontrolou signifikantně neliší (Boot et al. 1998; Werkstetter et al. 2012), jedná se zřejmě o primární kostní poruchu způsobenou zánětlivým procesem, nikoliv nedostatečnou stimulací ze strany kosterního svalstva.

Celková pevnost kosti je určena jednak denzitou a jednak geometrickým uspořádáním kortexu. U dlouhých kostí, kde se nachází převaha kortikální kostní tkáně trabekulární kostní denzita zásadním způsobem neovlivňuje celkovou pevnost kosti. Vzhledem k velkému povrchu, se však trabekulární kostní tkáň vyznačuje vysokou mírou remodelace a díky tomu slouží jako důležitý indikátor při hodnocení osteoporózy – narušení kostního metabolismu (tedy rovnováhy mezi resorpcí a novotvorbou kosti) se nejdříve projeví snížením trabekulární kostní denzity. U dětí s chronickým onemocněním je proto nejdříve zaznamenáno snížení trabekulární denzity, např. vlivem probíhajících zánětlivých procesů. Pevnost kosti v ohybu a torzi, popř. její zvýšení může být dosaženo dvěma způsoby: 1) zvětšením množství kostní hmoty (denzity) nebo 2) geometrickým uspořádáním kosti (Ramchand & Seeman 2018). Biomechanicky výhodnější je rozložení mineralizované kostní matrix kortexu ve větší vzdálenosti od

dlouhé osy kosti – k dosažení pevnosti kosti vůči ohybu vyžaduje kost o vyšším průřezu vzhledem ke své velikosti méně materiálu ve srovnání s menší kostí.

Mírné snížení kostní BMD a alterace geometrie kosti není z klinického hlediska sama o sobě zásadní. Důležité je, jakým způsobem a do jaké míry tyto změny ovlivňují pevnost kosti a riziko vzniku fraktur. Snížená pevnost kosti u dětí s CD byla zaznamenána jak v době diagnózy, tak 1 rok po začátku léčby (Dubner et al. 2009). Naproti tomu v naší studii jsme zaznamenali hodnotu pevnosti kosti měřenou pomocí indexu pevnosti SSI v normě. Možnou příčinou rozdílu v těchto výsledcích je využití rozdílných vzorců pro výpočet indexů pevnosti kosti a odlišná místa měření. Zatímco index pevnosti kosti SSI je měřen v oblasti 66 % délky kosti a při výpočtu je zohledněna veličina kostní denzity, index pevnosti Z_p (polar section modulus) je měřen ve vzdálenosti 38 % délky tibie a poskytuje odhad pevnosti kosti v ohybu a torzi pouze na základě znalosti periostálního a endoostálního rozměru kortexu. Dubner et al. (2009) zaznamenala nejen sníženou šíři kortikální kosti, ale také její celkovou velikost, zatímco u našich pacientů se celková plocha kosti nelišila od referenční populace a kortikální denzita byla zvýšená.

Zatímco u dospělých pacientů s IBD je prevalence vertebrálních fraktur v porovnání se zdravou kontrolou vyšší (Vázquez et al. 2012), u dětí a adolescentů se tato asociace nepotvrdila – zaznamenán byl pouze trend směrem k jejich zvýšenému riziku (Kappelman et al. 2011). To je v souladu s výsledky naší studie, kde přes významně sníženou trabekulární BMD byla zaznamenána vertebrální fraktura (stupeň 1) pouze u jediného pacienta. Zde je nutno podotknout, že hodnocení asymptomatických vertebrálních fraktur u dětí a adolescentů s sebou přináší celou řadu obtíží a nejasností vznikajících vlivem změn, ke kterým na obratli dochází v průběhu jeho vývoje (Jaremko et al. 2015). Snížení vertebrálního těla do 20 % (tj. stupeň 0) bylo zaznamenáno u dalších 27,7 % pacientů. V souladu s výsledky na dospělých pacientech (Vázquez et al. 2012) však nebylo toto snížení asociováno s trabekulární BMD ani s pevností kosti. Tyto výsledky naznačují, že nízká trabekulární BMD není jediným rizikovým faktorem pro zvýšené riziko vzniku vertebrálních fraktur u jedinců s IBD. Otázkou zůstává, jaká bude incidence vertebrálních fraktur současných dětských pacientů s IBD v dospělém věku vzhledem k odlišnostem v poskytované péči, tj. snaze o minimalizování expozici kortikosteroidům a dostupnosti biologické léčby. Z výše

uvedeného rovněž vyplývá, že snímek thorakolumbální páteře by měl být indikován pouze v individuálních případech a není nutné jej zavádět jako plošný screening u všech dětských pacientů s IBD.

V rámci průřezové studie byla rovněž zkoumána možná asociace mezi markery kostního metabolismu, jako je CTX, ALP, PTH nebo 25-OHD, a denzitometrickými nebo mechanografickými parametry. CTX a ALP negativně korelovaly s trabekulární BMD, na druhou stranu PTH ani sérové koncentrace 25-OHD nebyly asociovány se změnami v kostní denzitě, geometrii kosti nebo s dynamickými svalovými funkcemi. V rámci longitudinální studie však došlo k významnému zlepšení denzitometrických parametrů a maximálního volního svalového výkonu na suplementaci vitamínem D, to ale nezávisle na sérových koncentracích 25-OHD. Ke změně uvedených parametrů nedošlo v souvislosti se snížením aktivity onemocnění. Z výše uvedených výsledků je patrné, že z nízké sérové koncentrace 25-OHD nelze usuzovat na stav pevnosti či kvalitu kostní hmoty a vyšetření 25-OHD by nemělo být prováděno izolovaně, ale vždy v relaci s PTH a ALP, tedy v souladu s recentně publikovaným doporučením České pediatrické společnosti ČLS JEP (Bronský et al. 2019). Přestože suplementace 2000 IU/d vitamínu D se ukázala jako bezpečná a vedla ke zlepšení trabekulární BMD a maximální svalové síly, nelze ji vzhledem k nejistotě efektu na pozdější vznik fraktur pacientům s IBD plošně doporučit, pouze nabídnout s vysvětlením nejistoty efektu. Za tímto účelem by bylo třeba realizovat prospektivní intervenční studii.

10.2. Muskuloskeletální systém u pacientů s DM1

V této studii jsme prokázali, že maximální volní svalový výkon a síla adjustovaná na tělesnou hmotnost měřeného jedince je u adolescentů s DM1 snižena. Toto snížení bylo zejména patrné ve skupině pacientů léčených déle než 9 let. DM1 rovněž již u adolescentů negativně ovlivnil skeletální systém, zaznamenána byla snížená trabekulární BMD, šíře kortikální kosti i pevnost kosti hodnocená prostřednictvím indexu SSI. Hodnocena byla taktéž možná asociace mezi vybranými biochemickými parametry a parametry kostně-svalové jednotky. Popsána byla negativní asociace sérové koncentrace PTH se Z-skóre trabekulární a kortikální BMD. Naopak asociace denzitometrických ani mechanografických parametrů s 25-OHD se nepotvrdila.

Narušené svalové funkce jsou často popisovanou komplikací u pacientů s DM1 (Balducci et al. 2014; Andreassen et al. 2009; Andersen et al. 1998) i DM2 (Balducci et al. 2014; Andersen et al. 1998; Andreassen et al. 2014), zejména pak u pacientů trpících diabetickou polyneuropatií (DPN). Otázkou zda, popřípadě do jaké míry jsou svalové funkce ovlivňovány DM1 v dětském věku se zabývalo pouze omezené množství studií (Fricke et al. 2008; Bechtold et al. 2006; Nguyen et al. 2015), jejichž výsledky nejsou zcela jednoznačné. U dětí a adolescentů s DM1 zařazených do naší studie byly zaznamenány narušené svalové funkce adjustované na tělesnou hmotnost pacienta. V rozporu s naším pozorováním, Bechtold et al. (2006) popsala zvýšenou svalovou sílu dětí a adolescentů s DM1 měřenou prostřednictvím ručního dynamometru, autorka sama však v závěru přiznává, že výsledky mohou být částečně zkresleny způsobem provedení testu a zvýšenou motivací pacientů ze strany lékaře. Na druhou stranu Fricke et al. (2008), který hodnotil svalové funkce u těchto pacientů za použití jak ručního dynamometru, tak mechanografie, popsal sníženou isometrickou sílu stisku a normální maximální volní svalový výkon, což je v souladu s našimi výsledky. Snížení dynamických svalových funkcí je u našich pacientů patrné v pouze parametrech adjustovaných na tělesnou hmotnost. Vzhledem ke skutečnosti, že naši pacienti se vyznačovali signifikantně vyššími hodnotami BMI ve srovnání se zdravou populací, domníváme se, že relativní hodnoty svalových funkcí ve srovnání s absolutními reprezentují skutečný stav svalového systému lépe.

Etiopatogeneze narušených svalových funkcí u pacientů s DM1 nebyla doposud jednoznačně objasněna, je však zřejmě multifaktoriální povahy. Jedním z možných mechanismů negativně ovlivňujících svalové funkce je nedostatek inzulínu a následný proteinový katabolismus. Je známo, že inzulínová terapie inhibuje rozpad proteinů (Meek et al. 1998) a stimuluje proteosyntézu skeletálních svalů skrze zvýšenou perfuzi svalů a tím zvýšenou dostupnost aminokyselin (Fujita et al. 2006). Další často diskutovanou příčinou narušených svalových funkcí u pacientů s DM1 je hyperglykémie, při níž dochází ve skeletálních svalech ke glykaci proteinů. Za tohoto stavu dochází nejdříve ke změně struktury proteinů a mimo jiné je také snížena motilita myosinu (Ramamurthy et al. 2001). Výsledná oxidace vede k nahromadění koncových produktů glykace intra- a extracelulárně (Snow et al. 2007). Tento proces byl asociován se snížením degradace proteinů (Monnier et al. 1984), což může vést k funkčním změnám skeletálních svalů. Překvapivé jsou proto výsledky studie Fricke et al. (2008),

který zaznamenal vyšší svalovou sílu u skupiny dětí a adolescentů s DM1 o HbA1c > 8,5 % ve srovnání se skupinou s HbA1c < 8,5 %.

Další možnou příčinou narušených svalových funkcí u pacientů s DM1 mohou být strukturální změny, ke kterým dochází u svalových vláken. U dospělých pacientů s DM1 sice bylo popsáno zvýšení jejich průměru a zvýšený poměr „rychlých“ vláken II. typu, tyto změny ale nesouvisely se svalovou silou (Andreassen et al. 2014). Významný rizikový faktor pro narušené svalové funkce představuje DPN, pro které je charakteristická demyelinizace a ztráta axonů vedoucí ke snížené vzrušivosti distálních motoneuronů. Tyto změny byly pozorovány poměrně brzy v průběhu onemocnění i u pacientů s relativně dobrou kompenzací DM1 (HbA1c < 8 %), a to dlouho před manifestací samotné DPN (van der Heyden et al. 2013). Přestože naše studie nebyla navržena k hodnocení DPN u sledovaných pacientů, z výsledků výše uvedené studie vyplývá, že se může na narušení svalových funkcí subklinická DPN částečně podílet.

Snížená trabekulární BMD, šíře kortikální kosti a pevnost kosti byla zaznamenána u pacientů zařazených do naší studie. Problematikou kostní denzity u dětí a adolescentů s DM1 se zabývala řada studií používajících různou metodiku. BMD lumbální páteře hodnocená prostřednictvím DXA byla u těchto pacientů zaznamenána normální (Brandao et al. 2007; Salvatoni et al. 2004), nebo snížená (Valerio et al. 2002; Loureiro et al. 2014; Moyer-Mileur et al. 2004). Studie zabývající BMD jednotlivých kompartmentů kosti a její geometrií pomocí pQCT byly zaměřeny na oblast tibie (Heap et al. 2004; Moyer-Mileur et al. 2004) nebo radia (Bechtold et al. 2007; Bechtold et al. 2006; Roggen et al. 2013). Pouze jedna studie se věnovala této problematice u pacientů s DM1 na obou místech (Saha et al. 2009). Dle výsledků těchto studií byla u dětí a adolescentů s DM1 zaznamenána normální (Roggen et al. 2013) nebo snížená trabekulární BMD (Heap et al. 2004; Bechtold et al. 2007; Moyer-Mileur et al. 2004). Pouze Bechtold et al. (2007) zaznamenala zvýšenou trabekulární BMD u prepubertálních dětí s DM1, současně však v průběhu pěti-letého pozorování došlo k jejímu významnému snížení. Výsledky zaznamenané u starších dětí byly tedy v souladu s naším pozorováním, což vede k závěru, že délka onemocnění negativně ovlivňuje trabekulární BMD u pacientů s DM1 a vede k významnému poklesu z normálních hodnot zaznamenaných v mladším věku.

V kontrastu se sníženou trabekulární BMD je zajímavý nálezní zvýšené kortikální BMD zaznamenaný u našich pacientů. V dříve publikovaných studiích byla zaznamenaná normální kortikální BMD (Bechtold et al. 2006; Saha et al. 2009; Heap et al. 2004) nebo zvýšená (Moyer-Mileur et al. 2004). Rozdíl v kortikální BMD mezi pacienty s DM1 a zdravou kontrolou se však v průběhu 12 měsíců setřel v důsledku malých přírůstků BMD, které byly negativně asociovány s kompenzací diabetu (HbA1c) (Moyer-Mileur et al. 2004).

Index pevnosti kosti SSI je vypočítanou veličinou, která vypovídá o pevnosti kosti v ohybu. V naší studii byla zaznamenaná snížená hodnota Z-skóre SSI, a to i přes zvýšenou hodnotu kortikální BMD. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky popsány Saha et al. (2009) na adolescentech. Snížená pevnost kosti zaznamenaná u našich pacientů může vznikat v důsledku alterované geometrie kosti. Přestože celková plocha kosti se u našich pacientů nelišila od referenčních údajů, šíře kortikální kosti byla významně snižena, což v souladu s poznatky materiálové fyziky vede ke snížení pevnosti v torzi a ohybu. V rozporu s naším pozorováním popsala Bechtold et al. (2007) u dětí a adolescentů s DM1 sníženou kortikální BMD a normální šíři kortikální kosti i BMD. Naopak u dospělých pacientů byla popsána alterace geometrie kosti ve smyslu zvýšení endokortikálního obvodu a snížení šíře kortikální kosti, ale pevnost kosti hodnocená prostředním indexu SSI byla v normě (Verroken et al. 2017). Na sníženou pevnost kosti u našich pacientů může mít vliv hyperglykémie, jak ukázala experimentální studie provedená na osteoblastech. Vysoká koncentrace glukózy alterovala proces mineralizace kosti, konkrétně byla pozorována zvýšená mineralizace spolu se sníženou kvalitou kostního minerálu (Garcia-Hernandez et al. 2012). Snížená pevnost kostního materiálu byla navíc prokázána pomocí mikro-indentací metody i u žen s diabetem 2. typu (Farr et al. 2014).

V naší studii nebyla prokázána korelace mezi sérovými koncentracemi 25-OHD a mechanografickými ani denzitometrickými parametry. Naopak PTH jakožto marker kostní resorpce negativně koreloval jak s trabekulární, tak kortikální BMD. Otázka, do jaké míry mohou sérové koncentrace 25-OHD ovlivňovat svalové funkce a kostní metabolismus a zda by insuficientní pacienti s DM1 měli být suplementováni je tak stále otevřená (Mao et al. 2014).

11. ZÁVĚR

Děti a adolescenti s IBD mají sníženou trabekulární BMD a alterovanou geometrii kosti. Dynamické svalové funkce se však významně neliší od referenční populace. Změny v denzitometrických parametrech jsou proto nejspíše důsledkem primárního onemocnění, nikoliv adaptací skeletu na nedostatečnou stimulaci kosterním svalstvem. Zaznamenané skeletální změny byly nezávislé na sérové koncentraci 25-hydroxycholecalciferolu. Orální suplementace 2 000 IU/d cholecalciferolu v průběhu jednoho roku však vedla ke zlepšení jak trabekulární BMD, tak maximální svalové síly u těchto pacientů, což je v souladu s naší hypotézou, že suplementace vitamínem D má pozitivní vliv na BMD a svalové funkce u pacientů s IBD. Suplementace cholecalciferolem se ukázala jako bezpečná a vedla k dosažení sérové koncentrace 25-OHD ≥ 50 nmol/l u většiny pacientů. Vzhledem k nejasnému efektu suplementace vitamínem D u dětí s IBD na pozdější vznik fraktur, ji však lze s vysvětlením nejistoty efektu těmto pacientům pouze nabídnout, nikoliv plošně doporučit. Přestože u naší skupiny pacientů byly zaznamenány snížené denzitometrické parametry, jako je trabekulární BMD nebo pevnost kosti, neprokázali jsme jejich asociaci s možným rizikem vzniku vertebrálních fraktur. Plošný screening pomocí laterogramu thorakolumbální páteře není proto opodstatněný. Indikován je pouze v individuálních případech.

U pacientů s DM1 byly zaznamenány změny muskuloskeletálního systému již v adolescenci. V souladu s naší hypotézou byl u pacientů s délkou onemocnění nad 9 let zaznamenán negativní efekt na svalové funkce, což může přispět k rozvoji osteoporózy popsané u dospělých pacientů s DM1. Sérová koncentrace 25-OHD nebyla asociována s denzitometrickými ani mechanografickými parametry, což naznačuje, že výpovědní hodnota izolovaně nízké 25-OHD pro zjištění stavu skeletu je minimální a její izolované vyšetření by nemělo být součástí rutinních vyšetřovacích postupů.

12. SOUHRN

Snížená kostní denzita a osteoporóza představují klinicky významné následky chronického onemocnění v dětství. Změny v denzitometrických parametrech a geometrii kosti byly pozorovány jak u pacientů se zánětlivým střevním onemocněním (IBD), tak u pacientů s diabetem 1. typu (DM1). Jedním z možných faktorů přispívajících ke změnám na skeletu mohou být v souladu s Frostovou teorií mechanostatu narušené svalové funkce.

Zatímco u dětských pacientů s IBD dochází ke snížení kostní denzity a alteraci geometrie kosti spíše v důsledku vlastního onemocnění a nikoliv nedostatečné stimulace kosterním svalstvem, u pacientů s DM1 dochází ke změnám v muskuloskeletálním systému již v období adolescence. Délka trvání DM1 negativně ovlivňuje svalové funkce, což může přispět k rozvoji osteoporózy popsané v dospělosti.

Klíčová slova: zánětlivá střevní onemocnění, diabetes 1. typu, kostní denzita, dynamické svalové funkce, vitamin D, fraktura

13. SUMMARY

Low bone mineral density and osteoporosis represent severe secondary complications that can be a result of childhood chronic disease. Changes in densitometric parameters and bone geometry were described in patients with inflammatory bowel disease (IBD) and type 1 diabetes (T1D). According to Frost's mechanostat theory impaired muscle functions may contribute the changes observed on the skeleton.

While the decrease of bone mineral density and alteration of bone geometry in patients with IBD is rather a result of the disease itself and not due to insufficient stimulation by skeletal muscle, alteration of the musculoskeletal system in patients with T1D occurs already in adolescence. Longer disease duration leads to decreased muscle function, which may contribute to the development of osteoporosis reported in adulthood.

Key words: inflammatory bowel disease, type 1 diabetes, bone density, dynamic muscle function, vitamin D, fracture

14. SEZNAM LITERATURY

1. Abraham, B.P., Prasad, P. & Malaty, H.M., 2014. Vitamin D deficiency and corticosteroid use are risk factors for low bone mineral density in inflammatory bowel disease patients. *Digestive Diseases and Sciences*, 59(8), pp.1878–1884.
2. Agostoni, C. et al., 2009. Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(3), pp.112–125.
3. Agus, A. et al., 2016. Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to adherent-invasive E . Coli infection and intestinal inflammation. *Nature: Scientific Reports*, 6, pp.1–14.
4. Ahmed, T.A. et al., 2007. Interleukin-6 inhibits growth hormone-mediated gene expression in hepatocytes. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(6), pp.1793–1803.
5. Albright, F. & Reifenstein, E.C., 1948. *The parathyroid glands and metabolic bone disease: Selected studies*, Baltimore: Williams & Wilkins Co. Available at: <http://hdl.handle.net/2027/mdp.39015007422341>.
6. Alexeeva, L. et al., 1994. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis, *Report of a WHO study group*, 843, pp. 1-136.
7. Ananthakrishnan, A.N. et al., 2013. A prospective study of long- term intake of dietary fiber and risk of Crohn’s disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 145(5), pp.970–977.
8. Andersen, H. et al., 1998. Association of muscle strength and electrophysiological measures of reinnervation in diabetic neuropathy. *Muscle & Nerve*, 21(12), pp.1647–1654.
9. Andoh, A. et al., 2008. Faecal microbiota profile of Crohn’s disease determined by terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 29, pp.75–82.
10. Andreassen, C.S. et al., 2009. Accelerated atrophy of lower leg and foot muscles- A follow-up study of long-term diabetic polyneuropathy using magnetic resonance imaging (MRI). *Diabetologia*, 52(6), pp.1182–1191.
11. Andreassen, C.S. et al., 2014. Striated muscle fiber size, composition, and

- capillary density in diabetes in relation to neuropathy and muscle strength. *Journal of Diabetes*, 6, pp.462–471.
12. Anliker, E. et al., 2011. Maximum ground reaction force in relation to tibial bone mass in children and adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43(11), pp.2102–2109.
 13. Anliker, E. & Toigo, M., 2012. Functional assessment of the muscle-bone unit in the lower leg. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*, 12(2), pp.46–55.
 14. Augustine, M. V. et al., 2014. Changes in vitamin D-related mineral metabolism after induction with anti-tumor necrosis factor α therapy in Crohn's disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 25, pp.991–998.
 15. Balducci, S. et al., 2014. Correlates of muscle strength in diabetes: The study on the assessment of determinants of muscle and bone strength abnormalities in diabetes (SAMBA). *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease*, 24, pp.18–26.
 16. Ballinger, A.B., Savage, M.O. & Sanderson, I.R., 2003. Delayed puberty associated with inflammatory bowel disease. *Pediatric Research*, 53(2), pp.205–210.
 17. Bass, S.L. et al., 2002. The effect of mechanical loading on the size and shape of bone in pre-, peri-, and postpubertal girls: A study in tennis players. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(12), pp.2274–2280.
 18. Bechtold, S. et al., 2007. Bone size normalizes with age in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 30(8), pp.2046–2050.
 19. Bechtold, S. et al., 2006. Early manifestation of type 1 diabetes in children is a risk factor for changed bone geometry: Data using peripheral quantitative computed tomography. *Pediatrics*, 118(3), pp.e627–34.
 20. Bechtold, S. et al., 2010. Reduced muscle mass and bone size in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 16(2), pp.216–225.
 21. Benchimol, E.I. et al., 2015. Inflammatory bowel disease in immigrants to Canada and their children: A population-based cohort study. *The American Journal of Gastroenterology*, pp.553–564.
 22. Bikle, D.D. et al., 1986. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D binding protein. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 63(4), pp.954–959.

23. Blake, G.M. & Fogelman, I., 2007. The role of DXA bone density scans in the diagnosis and treatment of osteoporosis. *Postgrad Med*, 83, pp.509–517.
24. Bonjour, J.P. et al., 2009. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publice de Mexico*, 51, pp.S5–S17.
25. Boot, A.M. et al., 1998. Bone mineral density and nutritional status in children with chronic inflammatory bowel disease. *Gut*, 42(2), pp.188–194.
26. Bouillon, R., 2017. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(8), pp.1–14.
27. Braegger, C. et al., 2013. Vitamin D in the healthy european paediatric population. *JPGN*, (56), pp.692–701.
28. Braegger, C.P. et al., 2011. Epidemiology of inflammatory bowel disease: Is there a shift towards onset at a younger age? *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 53(2), pp.141–144.
29. Brandao, F.R. et al., 2007. Bone metabolism is linked to disease duration and metabolic control in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 78(3), pp.334–339.
30. Bronský, J. et al., 2019. Doporučený postup České pediatrické společnosti a Odborné společnosti praktických dětských lékařů ČSL JEP pro suplementaci dětí a dospívajících vitamínem D. *Česko-sloveská Pediatrie*, 74(8), pp.473–482.
31. Buehring, B. et al., 2014. Reproducibility of jumping mechanography and traditional measures of physical and muscle function in older adults. *Osteoporosis International*, 26(2), pp.819–825.
32. Burisch, J. et al., 2014. East – West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: the ECCO-EpiCom inception cohort. *Gut*, 63, pp.588–597.
33. Burisch, J. et al., 2013. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *Journal of Crohn's and Colitis*, 7(4), pp.322–337.
34. Burnham, J.M. et al., 2005. Body-composition alterations consistent with cachexia in children and young adults with Crohn disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82(2), pp.413–20.
35. Burnham, J.M. et al., 2004. Whole body BMC in pediatric Crohn disease: Independent effects of altered growth, maturation, and body composition. *Journal of Bone and Mineral Research*, 19(12), pp.1961–1968.
36. Cardwell, C.R. et al., 2008. Caesarean section is associated with an increased risk

- of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: A meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*, 51, pp.726–735.
37. Cinek, O. et al., 2000. Type 1 diabetes mellitus in Czech children diagnosed in 1990 ± 1997: A significant increase in incidence and male predominance in the age group 0 - 4 years. *Diabetic Medicine*, 17, pp.64–69.
 38. Cinek, O., Kulich, M. & Sumnik, Z., 2012. The incidence of type 1 diabetes in young Czech children stopped rising. *Pediatric Diabetes*, 13, pp.559–563.
 39. Cinek, O., Sumnik, Z. & Vavrinec, J., 2003. Continuing increase in incidence of childhood-onset type 1 diabetes in the Czech Republic 1990 – 2001. *Eur J Pediatr*, 162, pp.428–429.
 40. Cointry, G.R. et al., 2014. The pQCT “Bone Strength Indices” (BSIs, SSI). Relative mechanical impact and diagnostic value of the indicators of bone tissue and design quality employed in their calculation in healthy men and pre- and post-menopausal women. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 14(1), pp.29–40.
 41. Committe on Diabetic Twins Japan Diabetes Society, 1988. Diabetes mellitus in twins: A cooperative study in Japan. *Diabetes Research and Clinical Practise*, 5, pp.271–280.
 42. Costa de Souza, S.K. et al., 2016. Low bone mineral density in patients with type 1 diabetes: Association with reduced expression of IGF1, IGF1R and TGFB1 in peripheral blood mononuclear cells. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 32, pp.589–595.
 43. Cowan, F.J., Parker, D.R. & Jenkins, H.R., 1995. Osteopenia in Crohn’s disease. *Arch Dis Child*, 73, pp.255–256.
 44. Crocombe, S. & Mughal, M.Z., 2004. Symptomatic vitamin D deficiency among non-Caucasian adolescents living in the United Kingdom. *Archives of Disease in Childhood*, 89, pp.197–199.
 45. Dethlefsen, L. et al., 2008. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *Plos Biology*, 6(11), pp.2383–2400.
 46. Dubner, S.E. et al., 2009. Longitudinal assessment of bone density and structure in an incident cohort of children with Crohn’s disease. *Gastroenterology*, 136, pp.123–130.
 47. Dyck, P.J. et al., 1986. Fiber loss is primary and multifocal in sural nerves in

- diabetic polyneuropathy. *Annals of Neurology*, 19, pp.425–439.
48. El-Matary, W., Sikora, S. & Spady, D., 2011. Bone mineral density, vitamin D, and disease activity in children newly diagnosed with inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(3), pp.825–829.
 49. Erlandson, M.C. et al., 2016. Muscle analysis using pQCT, DXA and MRI. *European Journal of Radiology*, 85(8), pp.1505–1511.
 50. Erlandson, M.C. et al., 2017. Structural strength benefits observed at the hip of premenarcheal gymnasts are maintained into young adulthood 10 years after retirement from the sport. *Pediatric Exercise Science*, 29(40), pp.476–485.
 51. Farr, J.N. et al., 2014. In vivo assessment of bone quality in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Journal of Bone and Mineral Research*, 29(4), pp.784–786.
 52. Frank, D.N. et al., 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(34), pp.13780–13785.
 53. Fricke, O. et al., 2006. Mechanography - A new device for the assessment of muscle function in pediatrics. *Pediatric Research*, 59(1), pp.46–49.
 54. Fricke, O. et al., 2008. The influence of auxology and long-term glycemic control on muscle function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 8(2), pp.188–195.
 55. Frost, H., 1987. Bone “mass” and the “mechanostat”: A proposal. *The Anatomical record*, 219(1), pp.1–9.
 56. Fujita, S. et al., 2006. Effect of insulin on human skeletal muscle protein synthesis is modulated by insulin-induced changes in muscle blood flow and amino acid availability. *Am.J.Physiol.Endocrinol .Metab*, 291, pp.E745–E754.
 57. Garcia-Hernandez, A. et al., 2012. High glucose concentrations alter the biomineralization process in human osteoblastic cells. *Bone*, 50(1), pp.276–288.
 58. Genant, H.K. et al., 1993. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *Journal of bone and mineral research*, 8(9), pp.1137–1148.
 59. Gevers, D. et al., 2015. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn’s disease. *Cell Host Microbe*, 15(3), pp.382–392.
 60. Gilat, T. et al., 1987. Childhood factors in ulcerative colitis and Crohn’s disease: An international cooperative study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*,

- 22(8), pp.1009 – 1024.
61. Griffin, L.M. et al., 2015. Improvements in bone density and structure during anti-TNF-alpha therapy in pediatric Crohn's disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(7), pp.2630–2639.
 62. Grover, Z., Muir, R. & Lewindon, P., 2014. Exclusive enteral nutrition induces early clinical, mucosal and transmural remission in paediatric Crohn's disease. *Journal of Gerontology*, 49, pp.638–645.
 63. Gunton, J.E. et al., 2015. Bone muscle interactions and vitamin D. *Bone*, 80, pp.89–94.
 64. Harris, L. et al., 2009. Inflammatory bowel disease causes reversible suppression of osteoblast and chondrocyte function in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 296, pp.1020–1029.
 65. Hasegawa, Y., Schneider, P. & Reiners, C., 2001. Age, sex, and grip strength determine architectural bone parameters assessed by peripheral quantitative computed tomography (pQCT) at the human radius. *Journal of Biomechanics*, 34, pp.497–503.
 66. Heap, J. et al., 2004. Alterations in bone characteristics associated with glycemic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr*, 144(1), pp.56–62.
 67. Hernandez, C.J., Beaupre, G.S. & Carter, D.R., 2003. A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteoporosis International*, 14, pp.843–847.
 68. van der Heyden, J.C. et al., 2013. Decreased excitability of the distal motor nerve of young patients with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*, 14(7), pp.519–25.
 69. Higuchi, L.M. et al., 2012. A prospective study of cigarette smoking and the risk of inflammatory bowel disease in women. *American Journal of Gastroenterology*, 107(9), pp.1399–1406.
 70. Hirano, A. et al., 2018. Comparison of the microbial community structure between inflamed and non-inflamed sites in patients with ulcerative colitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 33, pp.1590–1597.
 71. Höglér, W. et al., 2008. Sex-specific developmental changes in muscle size and bone geometry at the femoral shaft. *Bone*, 42, pp.982–989.
 72. Holčík, J. & Komenda, M., 2015. *Matematická biologie: e-learningová učebnice* 1st ed., Brno: Masarykova univerzita. Available at:

<https://portal.matematickabiologie.cz/>.

73. Holick, M.F. et al., 2011. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(7), pp.1911–1930.
74. Holick, M.F. et al., 1980. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science*, 210(4466), pp.203–205.
75. Holick, M.F., 2006. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(8), pp.2062–2072.
76. Holick, M.F., 2007. Vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine*, 357(3), pp.266–281.
77. Honda, K. & Littman, D.R., 2012. The microbiome in infectious disease and inflammation. *Annu Rev Immunol*, 30, pp.759–795.
78. Hossein-Nezhad, A. & Holick, M.F., 2013. Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin Proc*, 88(7), pp.720–755.
79. Hradský, O., 2017. *Rizikové faktory vzniku a průběhu zánětlivých střevních onemocnění u dětí*. 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze.
80. Hughes, J.M. & Petit, M.A., 2010. Biological underpinnings of Frost's mechanostat thresholds: The important role of osteocytes. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*, 10(2), pp.128–135.
81. Hviid, A., Svanstro, H. & Frisch, M., 2010. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut*, (60), pp.49–54.
82. Hyams, J.S. et al., 1991. Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 12(4), pp.439–47.
83. Chang, H.K. et al., 2017. Bone mineral density among Korean females aged 20 – 50 years: Influence of age at menarche (The Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2008 – 2011). *Osteoporosis International*, 28, pp.2129–2136.
84. Chevalley, T. et al., 2005. Interaction between calcium intake and menarcheal age on bone mass gain: An eight-year follow-up study from prepuberty to postmenarche. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(1), pp.44–51.
85. Ishikawa, S. et al., 2013. Effects of weight-bearing exercise on bone health in girls: A meta-analysis. *Sports Med*, 43, pp.875–892.

86. Jaremko, J.L. et al., 2015. Common normal variants of pediatric vertebral development that mimic fractures: A pictorial review from a national longitudinal bone health study. *Pediatric Radiology*, 45(4), pp.593–605.
87. Johnell, O. et al., 1995. Risk factors for hip fracture in European women: The MEDOS study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(11), pp.1802–1815.
88. Jones, D.A. et al., 1983. Size and composition of the calf and quadriceps muscles in Duchenne muscular dystrophy. *Journal of the Neurological Sciences*, 60, pp.307–322.
89. Jorde, R. et al., 2016. Vitamin D 20 000 IU per week for five years does not prevent progression from prediabetes to diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 101(4), pp.1647–1655.
90. Jostins, L. et al., 2012. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*, 491(7422), pp.119–124.
91. Kaakoush, N.O. et al., 2015. Effect of exclusive enteral nutrition on the microbiota of children with newly diagnosed Crohn’s disease. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 6(1), pp.e71–11.
92. Kappelman, M.D. et al., 2011. Risk of diagnosed fractures in children with inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(5), pp.1125–1130.
93. Kaprio, J. et al., 1992. Concordance for type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. *Diabetologia*, 35, pp.1060–1067.
94. Kedia, S. & Ahuja, V., 2017. Epidemiology of inflammatory bowel disease in India: The great shift east. *Inflammatory bowel diseases*, 2, pp.102–115.
95. Ko, Y. et al., 2015. Inflammatory bowel disease environmental risk factors: A population-based case-control study of middle eastern migration to Australia. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 13(8), pp.1453–1463.
96. Kobzova, J. et al., 2004. The 6th nationwide anthropological survey of children and adolescents in the Czech Republic in 2001. *Central European journal of public health*, 12(3), pp.126–130.
97. Kotlarz, D. et al., 2012. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: Implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology*, 143(2), pp.347–355.
98. Krause, M.P., Riddell, M.C. & Hawke, T.J., 2011. Effects of type 1 diabetes

- mellitus on skeletal muscle: Clinical observations and physiological mechanisms. *Pediatric Diabetes*, 12, pp.345–364.
99. Laakso, S. et al., 2014. Compromised peak bone mass in patients with inflammatory bowel disease - A prospective study. *Journal of Pediatrics*, 164(6), pp.1436 – 1443.
 100. Laing, E.M. et al., 2002. A prospective study of bone mass and body composition in female adolescent gymnasts. *The Journal of Pediatrics*, 141, pp.211–216.
 101. Van Langenberg, D.R. et al., 2014. Delving into disability in Crohn’s disease: Dysregulation of molecular pathways may explain skeletal muscle loss in Crohn’s disease. *Journal of Crohn’s and Colitis*, 8(7), pp.626–634.
 102. Larson, C.M. & Henderson, R.C., 2000. Bone mineral density and fractures in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, 20(1), pp.71–74.
 103. Leslie, W.D. et al., 2008. Vitamin D status and bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: The Manitoba IBD cohort study. *American Journal of Gastroenterology*, 103(6), pp.1451–1459.
 104. Levine, A. et al., 2014. ESPGHAN revised Porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 58(6), pp.795–806.
 105. Lewiecki, M.E., Miller, P.D. & Watts, N.B., 2019. Standard techniques of bone mass measurement in adults. In J. P. Bilezikian, ed. *Metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Hoboken USA: John Wiley and Sons, pp. 252–259.
 106. Lindoso, L. et al., 2018. The effect of early-life environmental exposures on disease phenotype and clinical course of Crohn’s disease in children. *The American Journal of Gastroenterology*, pp.1–6.
 107. Logan, I. & Bowlus, C.L., 2010. The geoeidemiology of autoimmune intestinal diseases. *Autoimmunity Reviews*, 9(5), pp.A372–A378.
 108. Loureiro, M.B. et al., 2014. Low bone mineral density is associated to poor glycemic control and increased OPG expression in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(3), pp.452–457.
 109. Lucarelli, S. et al., 2006. Vertebral fractures and increased sensitivity to corticosteroids in a child with ulcerative colitis: Successful use of pamidronate. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 43(4), pp.533–535.

110. Lukacs, A. et al., 2012. Reduced physical fitness in children and adolescents with type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes*, 13(5), pp.432–437.
111. Mager, D.R. et al., 2018. Vitamin D status and risk for sarcopenia in youth with inflammatory bowel diseases. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(4), pp.623–626.
112. Maggioli, C. & Stagi, S., 2017. Bone modeling, remodeling, and skeletal health in children and adolescents: mineral accrual, assessment and treatment. *Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 22, pp.1–5.
113. Makin, G. et al., 1989. Target cell metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D3 to calcitroic acid. *J Biochem*, 262, pp.173–180.
114. Malcova, H. et al., 2006. Absence of breast-feeding is associated with the risk of type 1 diabetes: A case – control study in a population with rapidly increasing incidence. *European Journal of Pediatrics*, 165, pp.114–119.
115. Mao, L. et al., 2014. Influence of diabetic state and vitamin D deficiency on bone repair in female mice. *Bone*, 61, pp.102–108.
116. Maratova, K. et al., 2017. Musculoskeletal system in children and adolescents with inflammatory bowel disease: normal muscle force, decreased trabecular bone mineral density and low prevalence of vertebral fractures. *Eur J Pediatr*, (176), pp.1355–1363.
117. Marco, A., Ferlazzo, G. & Fries, W., 2015. Vitamin D and inflammatory bowel disease. *Biomed Research International*, pp.1–16.
118. Martin, R.B., 1991. Determinants of the mechanical properties of bones. *Journal of Biomechanics*, 24, pp.79 – 88.
119. Martinez, C. et al., 2008. Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *American Journal of Gastroenterology*, 103(14), pp.643–648.
120. Masuda, K. et al., 2003. The relationship between muscle cross-sectional area and strength in various isokinetic movements among soccer players. *Journal of Sports Sciences*, 21, pp.851–858.
121. Matsuoka, K. & Kanai, T., 2015. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Seminars in Immunopathology*, 37, pp.47–55.
122. Mazanec, R., Bojar, M. & Nedělka, T., 2009. Diabetická neuropatie z pohledu neurologa. *Neurologie pro praxi*, 10(6), pp.378–383.
123. Meek, S.E. et al., 1998. Differential regulation of amino acid exchange and

- protein dynamics across splanchnic and skeletal muscle beds by insulin in healthy human subjects. *Diabetes*, 47(12), pp.1824 – 1835.
124. Molina, P. et al., 2017. Vitamin D, a modulator of musculoskeletal health in chronic kidney disease. *Journal of Cachexia, Sarkopenia and Muscle*, 8, pp.686–701.
 125. Monnier, V., Kohn, R.R. & Cerami, A., 1984. Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Pro.Natl.Acad.Sci.*, 81, pp.583–587.
 126. Moyer-Mileur, L.J. et al., 2004. Bone mineral acquisition in adolescents with type 1 diabetes. *The Journal of Pediatrics*, 145(5), pp.662–669.
 127. Moyer-Mileur, L.J. et al., 2008. IGF-1 and IGF-binding proteins and bone mass, geometry, and strength: Relation to metabolic control in adolescent girls with type 1 diabetes. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23(12), pp.1884–91.
 128. Moyer-Mileur, L.J., Quick, J.L. & Murray, M.A., 2008. Peripheral quantitative computed tomography of the tibia: Pediatric reference values. *Journal of Clinical Densitometry*, 11(2), pp.1–12.
 129. Munns, C.F. et al., 2016. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *Hormone Research in Paediatrics*, 85(2), pp.83–106.
 130. Napoli, N. et al., 2017. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. *Nature Reviews: Endocrinology*, 13, pp.1–12.
 131. Need, A.G. et al., 2008. Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe vitamin D deficiency. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23(11), pp.1859–1863.
 132. Ng, S.C. et al., 2015. Environmental risk factors in inflammatory bowel disease: A population-based case-control study in Asia-Pacific. *Gut*, 64, pp.1063–1071.
 133. Nguyen, T. et al., 2015. Fitness and physical activity in youth with type 1 diabetes mellitus in good or poor glycemic control. *Pediatric Diabetes*, 16(1), pp.48–57.
 134. Nishiyama, K.K., Dall’Ara, E. & Engelke, K., 2019. Advanced techniques of bone mass measurements and strength in adults. In J. P. Bilezikian, ed. *Metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Hoboken USA: John Wiley and Sons, pp. 260 – 271.
 135. Oku, Y. et al., 2016. Influences of dietary vitamin D restriction on bone strength, body composition and muscle in rats fed a high-fat diet: involvement of mRNA expression of MyoD in skeletal muscle. *The Journal of nutritional biochemistry*,

- 32, pp.85–90.
136. Ooi, J.H. et al., 2013. Vitamin D regulates the gut microbiome and protects mice from dextran sodium sulfate – induced colitis. *The Journal of Nutrition*, 143, pp.1679–1686.
 137. Orlando, G. et al., 2017. The impact of type 1 diabetes and diabetic polyneuropathy on muscle strength and fatigability. *Acta Diabetologica*, 54(6), pp.543–550.
 138. Papadopoulou-Marketou, N., Chrousos, G.P. & Kanaka-Gantenbein, C., 2017. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: A review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. *Diabetes Metab Res Rev.*, 33, pp.1–10.
 139. Pappa, H. et al., 2011. Skeletal health of children and adolescents with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 53(1), pp.11–25.
 140. Pappa, H.M. et al., 2014. Maintenance of optimal vitamin D status in children and adolescents with inflammatory bowel disease: A randomized clinical trial comparing two regimens. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 99(9), pp.3408–17.
 141. Pappa, H.M. et al., 2011. Prevalence and risk factors for hypovitaminosis D in young patients with inflammatory bowel disease: A retrospective study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 53(4), pp.361 – 364.
 142. Pappa, H.M. et al., 2006. Vitamin D status in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Pediatrics*, 118(5), pp.1950–61.
 143. Parfitt, A.M., 1994. The two faces of growth: Benefits and risks to bone integrity. *Osteoporosis International*, 4, pp.382–398.
 144. Parthasarathy, L.S. et al., 2016. Bone status of Indian children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Bone*, 82, pp.16–20.
 145. Patterson, C.C. et al., 2019. Trends and cyclical variation in the incidence of childhood type 1 diabetes in 26 European centres in the 25 year period 1989 – 2013: A multicentre prospective registration study. *Diabetologia*, 62, pp.408–417.
 146. Pludowski, P. et al., 2018. Vitamin D supplementation guidelines. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 175, pp.125–135.
 147. Pozler, O. et al., 2006. Incidence of Crohn disease in the Czech Republic in the years 1990 to 2001 and assessment of pediatric population with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 42, pp.186–

- 189.
148. R Core Team, 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Available at: <https://www.r-project.org/>.
 149. Ramamurthy, B. et al., 2001. Changes in myosin structure and function in response to glycation. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15(September), pp.2415–2422.
 150. Ramchand, S.K. & Seeman, E., 2018. The influence of cortical porosity on the strength of bone during growth and advancing age. *Current Osteoporosis Reports*, 16, pp.561–572.
 151. Rauch, F. et al., 2002. Muscle analysis by measurement of maximal isometric grip force: New reference data and clinical applications in pediatrics. *Pediatric Research*, 51(4), pp.505–510.
 152. Rejnmark, L. et al., 2017. Non-skeletal health effects of vitamin D supplementation: A systematic review on findings from meta-analyses summarizing trial data. *Plos One*, 12(7), pp.1–39.
 153. Ricotti, V. et al., 2016. Upper limb evaluation in Duchenne muscular dystrophy: Fat-water quantification by MRI , muscle force and function define endpoints for clinical trials. *Plos One*, 11(9), pp.1–15.
 154. Robling, A.G., Castillo, A.B. & Turner, C.H., 2006. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 8, pp.455–498.
 155. Roggen, I. et al., 2013. Trabecular bone mineral density and bone geometry of the distal radius at completion of pubertal growth in childhood type 1 diabetes. *Hormone Research in Paediatrics*, 79(2), pp.68–74.
 156. Rosen, C.J. et al., 2012. IOM committee members respond to Endocrine society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(4), pp.1146–1152.
 157. Ross, A.C. et al., 2011. 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*, 96, pp.53–58.
 158. Saha, M.T. et al., 2009. Bone mass and structure in adolescents with type 1 diabetes compared to healthy peers. *Osteoporosis International*, 20(8), pp.1401–1406.
 159. Salvatoni, A. et al., 2004. Bone mineral density in diabetic children and adolescents: A follow-up study. *Bone*, 34(5), pp.900–904.

160. Sartor, R.B., 2008. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 134, pp.577–594.
161. Semeao, E.J. et al., 1997. Vertebral compression fractures in pediatric patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 112(5), pp.1710–1713.
162. Shah, V.N., Shah, C.S. & Snell-Bergeon, J.K., 2015. Type 1 diabetes and risk of fracture: Meta-analysis and review of the literature. *Diabetic Medicine*, 32(9), pp.1134–42.
163. Shaw, S.Y., Blanchard, J.F. & Bernstein, C.N., 2010. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(12), pp.2687–2692.
164. Shuhart, C.R. et al., 2019. Executive summary of the 2019 ISCD position development conference on monitoring treatment, DXA cross-calibration and least significant change, spinal cord injury, periprosthetic and orthopedic bone health, transgender medicine, and pediatrics. *Journal of Clinical Densitometry*, 22(4), pp.453–471.
165. Schoenau, E. et al., 2002. Bone mineral content per muscle cross-sectional area as an index of the functional muscle-bone unit. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(6), pp.1095–1101.
166. Schonau, E., 2004. The peak bone mass concept: Is it still relevant? *Pediatric Nephrology*, 19, pp.825–831.
167. Schwarz, J. et al., 2017. Inflammatory bowel disease incidence in Czech children: A regional prospective study, 2000-2015. *World Journal of Gastroenterology*, 23(22), pp.4090–4101.
168. Silverberg, M.S. et al., 2005. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19, p.5A–36A.
169. Simpson, R.U., Thomas, G.A. & Arnold, A.J., 1985. Identification of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Receptors and Activities in Muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 260, pp.8882–8891.
170. Singhal, R. et al., 2010. The role of appendectomy in the subsequent development of inflammatory bowel disease: A UK-based study. *Int J Colorectal Dis*, 25, pp.509–513.
171. Snow, L.M. et al., 2007. Advanced glycation end product in diabetic rat skeletal

- muscle in vivo. *Pathobiology*, 73(5), pp.244–251.
172. Song, S.M. et al., 2014. Nutritional status and growth in Korean children with Crohn's disease: A single-center study. *Gut and Liver*, 8(5), pp.500–507.
173. Sonntag, B. et al., 2007. Preterm birth but not mode of delivery is associated with an increased risk of developing inflammatory bowel disease later in life. *Inflammatory Bowel Diseases*, 13(11), pp.1385–1390.
174. Soucek, O. et al., 2015. The muscle-bone interaction in Turner syndrome. *Bone*, 74, pp.160–165.
175. Souček, O., 2012. *Využití periferního kvantitativního CT pro časnou detekci osteoporózy u dětí s chronickým onemocněním*. Univerzita Karlova.
176. Stankov, K., Benc, D. & Draskovic, D., 2013. Genetic and epigenetic factors in etiology of diabetes mellitus type 1. *Pediatrics*, 132(6), pp.1112–1122.
177. Strachan, D.P., 1989. Hay fever, hygiene, and household size. *British Medical Journal*, 299, pp.1259–1260.
178. Subramaniam, K. et al., 2015. Infliximab reverses inflammatory muscle wasting (sarcopenia) in Crohn's disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 41(5), pp.419–428.
179. Sumnik, Z. et al., 2004. Higher maternal age at delivery, and lower birth orders are associated with increased risk of childhood type 1 diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 112(6), pp.294–297.
180. Sumnik, Z. et al., 2013. Reference Data for Jumping Mechanography in Healthy Children and Adolescents Aged 6-18 Years. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, 13(3), pp.297–311.
181. Sýkora, J. et al., 2018. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 24(25), pp.2741–2763.
182. Szafors, P. et al., 2018. Risk of fracture and low bone mineral density in adults with inflammatory bowel diseases. A systematic literature review with meta-analysis. *Osteoporosis International*, 29, pp.2389–2397.
183. Šumník, Z. & Souček, O., 2012. Diagnostika osteoporózy u dětí a adolescentů. *Pediatric pro praxi*, 13(4), pp.4–6.
184. Terada, M. et al., 1998. Growth-inhibitory effect of a high glucose concentration on osteoblast-like cells. *Bone*, 22(1), pp.17–23.
185. Thayu, M. et al., 2010. Determinants of changes in linear growth and body

- composition in incident pediatric Crohn's disease. *Gastroenterology*, 139(2), pp.430–438.
186. Thearle, M. et al., 2000. Osteoporosis: An unusual presentation of childhood Crohn's disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(6), pp.2122–2126.
187. Thong, E.P. et al., 2018. Fracture risk in young and middle-aged adults with type 1 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Endocrinology*, 89, pp.314–323.
188. Thrailkill, K. et al., 2014. Loss of insulin receptor in osteoprogenitor cells impairs structural strength of bone. *Journal of Diabetes Research*, pp.10–12.
189. Toth, C. et al., 2014. Motor unit number estimations are smaller in children with type 1 diabetes mellitus: A case-cohort study. *Muscle and Nerve*, 50(4), pp.593–598.
190. Tsampalieros, A. et al., 2014. Changes in trabecular bone density in incident pediatric Crohn's disease: A comparison of imaging methods. *Osteoporosis International*, 25(7), pp.1875–1883.
191. Turner, D. et al., 2007. Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: A prospective multicenter study. *Gastroenterology*, 133(2), pp.423–32.
192. Turner, D. et al., 2012. Management of Pediatric Ulcerative Colitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(3), pp.340–361.
193. Ungaro, R. et al., 2014. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: A meta-analysis. *Am J Gastroenterol*, 109, pp.1728–1739.
194. Valerio, G. et al., 2002. The lumbar bone mineral density is affected by long-term poor metabolic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Hormone Research*, 58(6), pp.266–272.
195. Vázquez, M.A. et al., 2012. Vertebral fractures in patients with inflammatory bowel disease compared with a healthy population: A prospective case-control study. *BMC gastroenterology*, 12, p.47.
196. Veilleux, L.N. & Rauch, F., 2010. Reproducibility of jumping mechanography in healthy children and adults. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*, 10(4), pp.256–266.
197. Veit, L.E. et al., 2014. The vitamin D status in inflammatory bowel disease. *PLoS*

- ONE*, 9(7), p.e101583.
198. Verroken, C. et al., 2017. Cortical bone size deficit in adult patients with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 102(8), pp.2887–2895.
 199. Vestergaard, P., 2007. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes — A meta-analysis. *Osteoporosis International*, 18, pp.427–444.
 200. Ward, K. et al., 2010. A randomized, controlled trial of vitamin D supplementation upon musculoskeletal health in postmenarchal females. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(10), pp.4643–4651.
 201. Ward, K. et al., 2009. Vitamin D status and muscle function in post-menarchal adolescent girls. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(2), pp.559–563.
 202. Ward, L.M. et al., 2010. Iliac bone histomorphometry in children with newly diagnosed inflammatory bowel disease. *Osteoporosis International*, 21(2), pp.331–337.
 203. Ward, L.M., Konji, V.N. & Ma, J., 2016. The management of osteoporosis in children. *Osteoporosis International*, 27, pp.2147–2179.
 204. Weaver, C.M.M. et al., 2016. The National Osteoporosis Foundation ’ s position statement on peak bone mass development and lifestyle factors : A systematic review and implementation recommendations. *Osteoporosis International*, 27, pp.1281–1386.
 205. Weber, D.R. et al., 2015. Type 1 diabetes is associated with an increased risk of fracture across the life span: A population-based cohort study using the Health improvement network (THIN). *Diabetes care*, 38, pp.1913–1921.
 206. Weinstein, R. et al., 1998. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potencial mechanism of their deleterious effects on bone. *The Journal of Clinical Investigation*, 102(2), pp.274–282.
 207. Werkstetter, K.J. et al., 2013. Influence of exclusive enteral nutrition therapy on bone density and geometry in newly diagnosed pediatric Crohn’s disease patients. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 63, pp.10–6.
 208. Werkstetter, K.J. et al., 2012. Lean body mass, physical activity and quality of life in paediatric patients with inflammatory bowel disease and in healthy controls.

- Journal of Crohn's and Colitis*, 6, pp.665–673.
209. Wicherts, I.S. et al., 2007. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(6), pp.2058–2065.
 210. Wingate, K.E. et al., 2014. 25-hydroxyvitamin D concentrations in children with Crohn's disease supplemented with either 2000 or 400 IU daily for 6 months: A randomized controlled study. *Journal of Pediatrics*, 164(4), pp.860–865.
 211. Wong, S.C., Catto-Smith, A.G.A. & Zacharin, M., 2014. Pathological fractures in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *European Journal of Pediatrics*, 173(2), pp.141–151.
 212. Wren, T.A.L. et al., 2005. Bone densitometry in pediatric populations: Discrepancies in the diagnosis of osteoporosis by DXA and CT. *Journal of Pediatrics*, 146(6), pp.776–779.
 213. Yamamoto, M., 2015. Insights into bone fragility in diabetes: The crucial role of bone quality on skeletal strength. *Endocrine Journal*, 62(4), pp.299–308.
 214. Yoon, J., Ihm, S.H. & Kim, K.W., 1989. Viruses as a triggering factor of type 1 diabetes and genetic markers related to the susceptibility to the virus-associated diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 7, pp.47–58.
 215. Yuzefpolskiy, Y. et al., 2014. Vitamin D receptor signals regulate effector and memory CD8 T cell responses to infections. *The Journal of Nutrition*, 144, pp.2073–2082.
 216. Zemel, B., 2013. Bone mineral accretion and its relationship to growth, sexual maturation and body composition during childhood and adolescence. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 106, pp.39–45.
 217. Zhukouskaya, V. V. et al., 2013. Prevalence of morphometric vertebral fractures in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 36(6), pp.1635–1640.

15. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA

15.1. Publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

15.1.1. S impact factorem

- Maratova K., Soucek O., Matyskova J., Hlavka Z., Petruzelkova L., Obermannova B., Pruhova S., Kolouskova S., Sumnik Z. (2018) Muscle functions and bone strength are impaired in adolescents with type 1 diabetes. *Bone* 106, 22 -27. **(IF 4,5)**
- Maratova K., Hradsky O., Matyskova J., Copova I., Soucek O., Sumnik Z., Bronsky J. (2017) Musculoskeletal system in children and adolescents with inflammatory bowel disease: Normal muscle force, decreased trabecular bone mineral density and low prevalence of vertebral fractures. *European Journal of Pediatrics*, 1-9. **(IF 2,2)**
- Hradsky O., Soucek O., Maratova K., Matyskova J., Copova I., Zarubova K., Bronsky J., Sumnik Z. (2017) Inflammatory Bowel Diseases Supplementation with 2 000 IU of cholecalciferol is associated with improvement of trabecular bone mineral density and muscle power in pediatric patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* 23:514–523. **(IF 4,3)**

15.1.2. Bez impact factoru

- Maratová K., Hradský O., Souček O., Šumník Z. (2018) Vitamin D a jeho suplementace u dětí se zánětlivým střevním onemocněním. *Pediatric pro praxi* 19(4), 137 - 140.

15.2. Publikace *in extenso* s částečným nebo bez vztahu k tématu disertace

15.2.1. S impact factorem

- Plachy L., Dusatkova P., Maratova K., Petruzelkova L., Zemkova D., Elblova L., Kucerova P., Ledjona T., Kolouskova S., Snajderova M., Sumnik Z., Lebla J., Pruhova S. (2020) *NPR2* variants are frequent among children with familiar short stature and respond well to growth hormone therapy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 105 (3): 1-7. **(IF 5,5)**

15.2.2. Bez impact factoru

- Souček O., Lebl J., Maratová K., Šumník Z. (2017) Modern diagnosis of osteoporosis and assessment of fractures risk in girls with Turner symptoms. *Osteologický Bulletin* 22(1):9-18.