БИОМАРКЕРИ ПРИ ХРОНИЧНИТЕ ВЪЗПАЛИТЕЛНИ БОЛЕСТИ НА ЧЕРВАТА – НАСТОЯЩЕ И БЪДЕЩЕ

Антония Атанасова

*Катедра „Анатомия и клетъчна биология“, Факултет по медицина,
Медицински университет – Варна*

BIOMARKERS IN CHRONIC INFLAMMATORY BOWEL DISEASE - PRESENT AND FUTURE

Antonia Atanassova

*Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna*

РЕЗЮМЕ

Хроничните възпалителни болести (IBD) на червата улцерозен колит (UC) и болест на Крон (CD) са сложни заболявания, които изискват комплексен подход при диагностиката, лечението и мониториране на ефекта от прилаганата терапия. За постигане на тези цели, освен класическите инвазивни изследвания, се използват и различни неинвазивни биомаркери. Извършен е преглед на използваните класически (ESR, C reactive protein, lactoferrin, fecal calprotectin, M2 Pyruvate kinase, myeloperoxidase) и нови биомаркери (Human Beta Defensin 2, matrix metalloproteinases, Human Nucleic Acid (DNA и miRNA), като са изтъкнати техните предимства и недостатъци.

Ключови думи: биомаркери, хронични възпалителни болести на червата, улцерозен колит, болест на Крон, човешки нулеинови киселини (ДНК и микро-РНК)

ABSTRACT

Inflammatory bowel disease (IBD), ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) are complex diseases that require a complex approach in the diagnosis, treatment and monitoring of the effect of the applied therapy. To achieve these goals, in addition to classical invasive endoscopies, various non-invasive biomarkers are applied. A review of the used classical (ESR, C-reactive protein, lactoferrin, fecal calprotectin, M2 pyruvate kinase, myeloperoxidase) and new biomarkers (human beta-defensin-2, matrix metalloproteinases, human nucleic acid (DNA and miRNA)) was done, highlighting their advantages and disadvantages.

Keywords: biomarkers, inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis, Crohn's disease, human nucleic acid (DNA and miRNA)

ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничните възпалителни болести на червата (ХВБЧ) – улцерозен колит (УК) и болест на Крон (БК), са сложни заболявания, с неясна етиология и патогенеза, които изискват комплексен подход за диагностика, лечение и проследяване, за да се постигне оптимален контрол на болестта и добро качество на живот.

„Златен стандарт“ за поставяне на диагноза и проследяването на ХВБЧ са ендоскопските методи в съчетание с морфологична оценка на промените и образни изследвания, които разкриват измененията на всички слоеве на стената на ГИТ, както и мезентериалната мастна тъкан и подлежащите лимфни възли. Независимо от все по-усъвършенстваната апаратура, която се прилага, във времето част от пациентите отказват извършването на илеоколоноскопия, фиброгастродуоденоскопия, компютъртомографска или магнитнорезонансна ентерография. Поради това се появява необходимост от прилагане на неинвазивни биомаркери, с които да се проследяват пациентите с ХВБЧ, да предсказват отговора към дадено лечение и/или поява на тласък на болестта.

Цел на настоящата статия е да се направи кратък обзор на приложението на биомаркерите за мониториране на хроничните възпалителни болести на червата и перспективите за бъдещо развитие.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За периода 1995 – юни 2020 г. в достъпните бази данни (Scopus, ScienceDirect, Web of Science, Access Medicine, PubMed) са използвани следните ключови думи на английски език: биомаркери, хроничните възпалителни болести на червата, улцерозен колит, болест на Крон, С-реактивен протеин, лактоферин, фекален калпротектин, М2 пируват киназа, миелопероксидаза, човешки бета-дефанзин 2, матриксметалопротеинази, човешки нуклеинови киселини (ДНК и микроРНК).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

За изследвания период са открити 6905 публикации, от които 1163 са обзорни статии, а 1410 са публикации с резултати от проведени изследвания. Първите публикации на приложението на биомаркерите при хроничните възпалителни болести на червата се появяват през 1995 г., които изследват ролята на ДНК промени за прогнози-

ране на риска от карцином на червата при пациенти с IBD.

Дълго време най-често прилаганите неинвазивни маркери за оценка на възпалението при ХВБЧ и съответно мониториране ефекта от лечение са: скорост на утаяване на еритроцитите (СУЕ), С-реактивен протеин (СРП), лактоферин, фекален калпротектин (ФКП), М2 пируват киназа (М2-ПК), миелопероксидаза (МПО). Напоследък се въведоха и по-нови маркери: човешки бета-дефанзин 2, матриксметалопротеинази (ММПи). А най-новите изследвания в този област разкриват нарастващата роля на един нов клас неинвазивни биомаркери като некодиращите микро-РНКи.

Скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ) и С-реактивен протеин (СРП) са неспецифични маркери на възпаление. Те могат бъдат променени при пациенти с активна ХВБЧ, но могат да бъдат повишени и при много други състояния, затова не могат да се прилагат при съмнение за УК или БК (1,98).

СРП се увеличава при голяма част от пациенти с активен БК, докато до 50% от пациентите с УК в тласък могат да се представят с нормални нива на СРП (49).

Някои проучвания разкриват, че при част от пациенти с ендоскопски доказана активност на БК може да се наблюдават нормални стойности на СРП (15).

Пациенти с нисък индекс на телесна маса или такива с илеална локализация на БК могат да имат постоянно ниски нива на СРП, въпреки активното заболяване (23).

За разлика от серологичните биомаркери, **фекалните биомаркери** като фекален калпротектин (ФКП) и фекален лактоферин (ФЛ) са по-специфични за чревно възпаление.

ФКП, който се освобождава от неутрофилите, може да служи като индиректна оценка на неутрофилния инфилтрат по хода на чревния тракт.

При съмнение за ХВБЧ, ФКП може да се използва за идентифициране на пациенти, които се нуждаят от ендоскопия за допълнителна оценка (2).

Сред пациентите с вече установена ХВБЧ ФКП служи като надежден маркер за активност на заболяването (12,50,73) за излекуване на лигавицата в засегнатите зони от стомашно-чревния тракт (81), както и да предскаже рецидив на заболяването (13,29) след интестинална резекция или без оперативна интервенция (94).

ФКП може да разграничи синдрома на раздразненото черво от ХВБЧ, но не може да отличава УК от БК (47,87).

ФКП корелира в по-малка степен с илеално обхващане на БК, в сравнение с дебелочервна локализация. Описани са нормални стойности на ФКП дори при дълбоки улцерации в илеума (28).

При пациентите с УК ФКП може да послужи за оценка на възпалението и като неинвазивен маркер за прогноза рецидив на УК (86).

В същото време някои проучвания демонстрираха, че съществува интраиндивидуалната вариабилност, циркадна промяна на ФКП, което означава, че времето за оценка също е от значение (48).

Лактоферинът е друг чувствителен и специфичен маркер за възпаление сред пациенти с IBD, който се съдържа в цитоплазмените гранули на неутрофилите и се отделя по време на процеса на клетъчната смърт. Корелират добре с нивата на ФКП (80).

Фекалният лактоферин (ФЛФ) може също да служи като маркер за заздравяване на лигавицата (81).

Оценка на тежестта на IBD

Като цяло прогнозата за тежест IBD в последните години се базира на съвкупност от критерии:

1. Такива, които оказват влияние върху живота на пациента: клинични симптоми, качество на живот, умора, инвалидизация;
2. Такива, които се свързват с тежестта на възпалението: СРП, лигавични промени, обхват на болестта;
3. Такива, които определят протичане на IBD: стриктурираща форма, обхват на тънкочервна резекция, перианална болест, брой на тласъци на заболяването и екстраинтестинални прояви (69).

При пациенти с тежка форма на ЯК са предложени множество методи за идентифициране на пациенти с най-голям риск от колектомия. Като в едно проучване се оказва, че единствено повишеният СРП се свързва с повишена вероятност от колектомия (88).

В ново време бе приложен матричен модел на риска, за да установи поотделно или в комбинация кой фактор: обхват на болестта, възраст, нужда от системни стероиди, СРП или СУЕ, се свързва с повишен риск от колектомия (82).

Предсказване отговора от лечение

Снижаване на плазмената концентрация на СРП корелира с клиничния терапевтичен отговор при БК (42,71,75,81).

Увеличаване на плазмените нива на СРП предсказва клиничен релапс при пациенти с БК (34,43) без симптоми (9) и при тези, които са преустановили изписаната терапия (41,53).

Високата плазмена експресия на СРП преди лечение предсказва необходимостта от поддържане на ремисия чрез анти-TNF лечение (72).

Въпреки това нивата на СРП слабо корелират с ендоскопската активност при БК (19,64) и има съобщения за нормални нива на детекция на СРП при пациенти с активна БК, основно по-често при тези с илеално обхващане, отколкото при тези с колонна локализация на болестта (94,97).

Обратното също е вярно, че повишените серумни концентрации на СРП невинаги корелират с активна болест (37).

Затова може да се обобщи, че плазмената концентрация на СРП не се явява цел на терапията при ХВБЧ, а по-скоро средство за мониториране на възпалението и насочва към необходимостта от ендоскопско и/или радиологично образно изследване, които се считат за „златен стандарт“, но не може да замени приложението им.

Стойностите на **ФКП**, които се смятат информативни за прогнозиране ремисия, варират в широки граници между различните клинични студии (от <50 µg/g до <250 µg/g). Те имат умерена предсказваща стойност при отделния пациент. Ако се използва строга граница (<50 µg/g), чувствителността на ФКП намалява или това води до ненужни ендоскопски изследвания (64).

При пациентите с УК промяната в стойностите на ФКП, а не абсолютните нива на експресия, имат значение за клиничната практика и вземането на решение за определен вид лечение (91).

Анализът на данните от литературата сочи, че СУЕ и СРП имат ниска специфичност и чувствителност. Затова все повече се проучват специфичните генотипове, свързани с БК или ЯК, за да се идентифицират на по-добри биомаркери.

Миелопероксидаза (МПО)

Миелопероксидазата (МПО) е един от редица протеини, които се съхраняват и освобождават от секреторни гранули на неутрофилите. Този протеин е стабилен 72 часа във фекална маса (68).

МПО има катионен заряд, т.е. може да се свърже с фекалните частици, т.е. и това да ограничи надеждността на теста като маркер за възпаление при ХВБЧ (65).

Екип от учени установяват, че нивата на МПО са значително повишени при пациенти с УК в сравнение със здрави контроли (58).

Чрез приложението на МПО може да се различи стадия на УК активност или ремисия с

чувствителност от 89%, но специфичност от едва 51,4%. Нивата на МПО корелират с резултатите от ендоскопски установената тежест, но не могат да предскажат ефективността на даден терапевтичен режим. Нивата на експресия на МПО не корелират с резултати от ендоскопския обхват или хистологична тежест (59).

Други изследователи (78) установяват значителна корелация между концентрациите на МРО и клинична, ендоскопската и морфологична активност и обхвата на болестта при пациенти с УК (59).

Би могло да се използва фекалната експресия на МПО като неинвазивен биомаркер за отговор на дадено лечение. В същото време противоречивостта на резултатите, изнесени в литературата, представя МПО като тест с ниска специфичност при пациентите с ХВБЧ.

М2 пируват киназа

Пируват киназата е ключов ензим в гликолитичния път (8) и се среща в скелетните мускули, сърцето или мозъка като тетрамер (М1) или в недиференцирани и пролифериращи тъкани като димер (наречен М2-РК) (10).

Нивата на експресия на М2-РК може да се установят в серум или във фецес, като във фекална маса този ензим остава стабилен до 48 часа (33).

Повишената фекална концентрация на М2-РК се среща при колоректален карцином (32), но и при възпаление на червата (8), което отразява повишената клетъчна регенерация. При болест на Крон се смята, че чревните епителни клетки са защитени срещу апоптоза чрез увеличена регулация на М2-РК по пътя на Bcl-xl (85).

Установено е, че нивата на експресия на М2-РК са по-високи при пациенти с УК или БК, в сравнение със здрави контроли. По-висока концентрация се установява при пациенти с активна ХВБЧ, отколкото при тези в ремисия. Измерването на М2-РК осигурява чувствителност от 67% и специфичност от 88% при разграничаване на органичните и функционалните заболявания (16).

Фекалният М2-РК може да бъде изследван и сред детската популация с ХВБЧ (10).

Нивата на М2-РК са по-високи при деца с ХВБЧ в сравнение със здрави контроли. При децата с БК тази експресия е в съответствие с индекса на активност на детската болест на Крон (PCDAI) (36).

Средните стойности на измерения ензим М2-РК са по-високи при пациентите с активно заболяване, но при 47% от децата с ХВБЧ, които са в

ремисия, също се установяват повишени нива на М2-РК (10).

Високи фекални нива на М2-РК наблюдават също и при деца с активен УК (38).

М2-РК и три други фекални маркери (калпротектин, S100A12 и лактоферин) са оценени като индикатори за отговора на терапия при деца с остър тежък УК. Авторите установяват, че М2-РК е по-надежден от останалите биомаркери за идентифициране на тези, които впоследствие няма да отговорят на интравенозно приложение на кортикостероиди.

През 2014 г. (11) екип от учени директно сравняват М2-РК и калпротектин при оценка на тежестта и активността на ХВБЧ. Ефективността на М2-РК е описана като по-ниска, спрямо калпротектин за идентифициране на ХВБЧ, УК и БК спрямо здрави контроли. При разграничаване на УК и БК в ремисия спрямо здрави контроли се установява, че ефективността на М2-РК е по-ниска от тази на калпротектина. Авторите заключават, че калпротектинът отразява по-точно тежестта и активността на ХВБЧ при деца в сравнение с М2-РК. Друг екип достига до противоположни изводи (74), че М2-РК е по-чувствителен маркер от калпротектина и лактоферина при оценка на активност in УК или БК. Противоречивите данни относно ефективността на М2-РК разкриват, че приложението на този маркер е полезно както при деца, така и при възрастни, но не може да осигури надеждност при мониториране на пациентите с ХВБЧ.

Човешки бета-дефензин-2

Дефенсините са вродени антимикробни пептиди, които се произвеждат от чревния епител и допринасят за защитата на организма (70).

Човешкият β -дефенсин (ЧБД) 2 може да бъде измерен във фекални проби (40).

Нивата на експресия при пациенти с ХВБЧ са значително по-високи ($p = 0.0002$), особено при пациентите с УК спрямо здрави контроли.

Например, β -дефенсин-2 и друг антимикробен пептид като кателицидин, могат да бъдат увеличени при пациенти с БК, особено при онези, които имат бактериални ДНК и в кръвни проби. Промените са медиирани посредством NOD2/CARD15 генотип (31).

ЧБД-2 може да се повиши и при пациенти с дразнимо дебело черво в сравнение с контролната група, като не се открива значима разлика с нивата при пациенти с УК. Тези резултати предполагат, че този биомаркер не е специфичен за ХВБЧ, а се наблюдава провъзпалително активи-

ране на имунната система на лигавиците и при пациенти с дразним колон (16).

Следователно не може да се прилага за диференциране и/или мониториране на пациентите с ХВБЧ.

Матриксметалопротеинази (ММПи) са ключово семейство биологични медиатори, участващи в разграждането и възстановяването на тъканите. Редица проучвания изследват ролята на ММП при ХВБЧ. Те участват в процесите на регулация, възпаление и тъканна деструкция. Балансът между ММП и техните инхибитори (тъканни инхибитори на металопротеиназите ТИММПи) може да повлияе на фиброзата и развитието на стриктури (62).

ММП се експресират в зоните на възпаление и улцерация в червата, като някои ММПи са свръхекспресирани при ХВБЧ (54,77).

Например ММП-2 е повишена в тъканите с възпаление при пациенти с ХВБЧ (26).

Установява се, че (26) повишените нива на матрична РНК в тъканите корелират с тежестта на възпалението. Имунохистохимичните изследвания разкриха присъствие ММП-2 в екстрацелуларния матрикс на субмукозата. В същото време може да се установи и повишена серумна (27) експресия и повишени нива в урината (57) при пациенти ХВБЧ.

ММП са мониторирани и при пациенти с БК, лекувани с инфликсимаб. Интересното е, че серумните нива на ММП-2 се увеличават както при отговорилите на лечението, така и при неотговарящи на терапията. Предполага се, че се дължи на повишения търновър на интестиналните клетки (27).

Редица изследователи насочват интереса си към ММП-9 при пациенти с ХВБЧ (45) и установяват, че серумните концентрации на ММП-9 корелират с нивата на СРП и активността на болестта, измерена чрез педиатричния индекс за активност на БК (PCDAI). При пациенти с УК концентрацията на ММП-9 има корелация с ендоскопската и клинична тежест на болестта ($p < 0.001$), с нивата на СРП ($p = 0.002$) и с нивата на фекален калпротектин ($p = 0.014$) (4,44).

Експресията на ММП-9 е повишена както при пациенти с БК, така и при тези с УК, но ефективността на ММП-9 като биомаркер е по-добра при УК и паучит (20).

При пациенти с УК ефективността на ММП-9 е сравнима с тази на калпротектина, но е по-ниска спрямо тази на ФКП при пациентите с БК (46).

Има различни съобщения относно нивата на ММП-9 и отговора на терапията. Данните за промяна в серумната експресия на ММП при лечение са противоречиви (56).

Като цяло изглежда, че ММП-9 може да бъде полезен биомаркер при оценка възпалителната активност на лигавиците при ХВБЧ, но са необходими нови добре обмислени клинични проучвания, които да установят истинската стойност на този биомаркер и неговата специфичност и надеждност при ХВБЧ.

Масштабните изследвания и анализи на генома (GWAS) установиха присъствието на генетичен компонент при пациентите ХВБЧ (в по-голяма степен изразен при БК отколкото при ЯК). Идентифицирани са около **240 локуса**, свързани с развитието на ХВБЧ (14,17,35,61,76).

Въпреки че последните технологични постижения значително улесниха генетичните изследвания на ХВБЧ, само част от общите характеристики на БК и ЯК могат да се свържат с генетични фактори. Изграждането на цялостната представа за патогенезата и развитието на тези заболявания остава непълно (89).

Що се отнася до унаследяването на ХВБЧ, само 13,1% за БК и до 8,2% за ЯК имат наследственост, а според други автори общо при 16–23% пациентите, появата на IBD може да се свърже с наследствеността (3,51).

За да се удовлетвори нарастващата необходимост от предсказване хода на IBD и персонализиране на подхода и лечението, се появяват и други маркери, като аденозин дезаминазата (99), още по-нови изследвания върху микробиома: илеален транскриптом, метагеном на илеални биоптати, кандидат гени за илеално засягане, фекален микробиом и други (5).

Установи се, че и други фактори – епигенетични и фактори на околната среда, влияят върху развитието на IBD (67).

Епигенетичните модификации се дефинират като промени в структурата на гените и наследствения фенотип, които не могат да бъдат обяснени с променени в ДНК. Класическите епигенетични механизми включват метилиране на ДНК, хистонна модификация, некодиращи РНК и позициониране на нуклеозоми (25).

Постепенно генетичните изследвания на молекулярно ниво навлизат и започват да дават отговор на множество от поставените въпроси. Оказва се, че **посредством изследванията в областта на микро-РНКите**, може да детайлизира патогенезата, да се подпомогне както диагности-

ка, така и проактивното мониториране и персонализиране подхода към пациентите с ХВБЧ.

Микро-РНКите са малки 21-24 нуклеотидни двуверижни РНК молекули, които с помощта на комплекс от белтъци могат да предизвикат нарязване на определени информационни РНКи (иРНКи) молекули. Тези и-РНКи се явяват техни мишени и нарязването им предизвиква РНК заглушаване (RNAi-silencing) на съответните гени. Често тези процеси са свързани и със системата за метилиране на гени – процесът на т. нар. РНК зависимо метилиране на ДНК, който е тясно свързан с РНК интерференцията. Малките РНКи, индуциращи тези процеси, са наречени малки интерфериращи РНК (**small interfering RNAs, siRNAs**). По-късно се открива още един клас малки некодиращи РНК в клетките – микро-РНК (microRNA, miRNA).

Интересът и значението на микро-РНК-зависимата генна регулация се засилва все повече с откриването на нови микро-РНКи и техните регулаторни мишени.

Най-новите данни сочат, че функциите на miRNA включват участие в множество биологични процеси: като изграждане и контрол на врождения и придобит имунитет, поддържането на стабилността на генома, устойчивостта на стресови фактори; растеж на клетките, диференциация, пролиферация и апоптоза; възпаление; както и участие в туморогенезата, клетъчна миграция, инвазия в хода на прогресия на множество туморни процеси (7,22,60).

Микро-РНКите произхождат от геномни локуси, различни от досега известните гени, т.е. те са ендегенно кодирани. Предшествениците на miRNA са транскрипти с фулкетна структура „стъбло-бримка“. От всяка молекула предшественик на микро-РНК се генерира един единствен микро-РНК:микро-РНК* дуплекс. Секвенциите на miRNA почти винаги са консервативни в близкородствени организми.

Микро-РНК-ите предизвикват „хетерорепресия (hetero-silencing), т.е. те предизвикват репресия (заглушаване) на гени, съвсем различни от гените, от които са произлезли (18,25).

Единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs) в pre-miRNA последователностите са редки, срещат се само в 10% от всички човешки pre-миРНКи и по-малко от 1% от микро-РНКте имат SNP в своите функционален „семенен“ регион или ядка (регион от 2-8 нуклеотида, които са от най-голямо значение за способността на микро-РНК да се свърже със съответната матрична РНК) (79).

Следователно функционални мутации в miRNAs е малко вероятно да бъдат толерирани и отрицателната селекция може възникват при тези генни локуси.

Всяка мутация в секвенция на дадена miRNA може да наруши взаимодействието ѝ с нейната мишена. Тъй като мишената е съвсем различен ген, следователно много малко вероятно е едновременно и мишената да претърпи необходимата мутация, компенсираща изменението на нейната miRNA. Затова съществува селективен натиск miRNA секвенциите да се запазват непроменени, с което се съхранява тяхната функционалност. С това се обяснява тяхната еволюционна консервативност (21,24).

Гените на miRNA са разположени в целия геном. Някои гени на miRNA са разположени на доста необичайни места в геномите, например в интроните на белтък, кодиращите гени или екзонните области на некодиращи РНКи, или поставени между независими транскрипционни единици (интергенно) (39).

За първи път през 2008 г. се установява променена регулация в колонната микро-РНК експресия при IBD пациенти (95).

Доказва се, че микро-РНКите са налични и могат да се изследват в серум, плазма, урина, фецес, слюнка, както и в биоптат от колон, илеум и резециран участък от ГИТ. Там остават в стабилна форма за различен период от време и могат да се изследват и да се използват като неинвазивен биомаркер при ХВБЧ, но и при много други заболявания (30,63).

След първите публикации в тази област започват изследванията за приложението на единични микро-РНКите, впоследствие и на панели от няколко при диагностика, диференциална диагноза, оценка активността, фиброза, КС-зависимост, КС-резистентност, както и като маркер, предсказващ малигнизация при пациенти с ХВБЧ (6,52,55,66,83,84,90,92,93,96,100).

Въпреки огромния брой публикации през последните десетина години, все още не са валидирани праговите стойности на отделните микро-РНК в здраве и при различни заболявания, включително и при пациентите с ХВБЧ. Различните екипи от учени използват различни източници на РНК-и (серум, плазма, слюнка, урина, фецес, мукоза, ангажирана в болестния процес), самите пациенти имат различна давност на болестта и са поставени на различни терапевтични режими. Всички тези особености правят приложението на данните от експресията на микро-РНК при пациентите с ХВБЧ трудно. Неза-

Табл. 1. Експресията на микро-РНКи при пациенти с ХВБЧ (95)

Заболяване	Тъкан	Микро-РНКи
Активен УК/зdrави контроли	Биопсии от колон сигмоидеум	↑ експресия: miR-16, miR-21, miR-23a, miR-24, miR-29a, miR-126, miR-195, let-7f ↓ експресия: miR-192, miR-375, miR-422b
БК с хронична активност/зdrави контроли	Биопсии от колон сигмоидеум	↑ експресия: miR-23b, miR-106a, miR-191 ↓ експресия: miR-19b and miR-629
БК с хронична активност/зdrави контроли	Биопсии от терминален илеум	↑ експресия: miR-16, miR-21, miR-223, miR-594
Активна БК/зdrави контроли	Периферна кръв	↑ експресия: miR-199a-5p, miR-362-3p, miR-340*, miR-532-3p, miRplus-E1271 ↓ експресия: miR-149*, miRplus-F1065
Активен УК/зdrави контроли	Периферна кръв	↑ експресия: miR-28-5p, miR-151-5p, miR-199a-5p, miR-340*, miRplus-E1271, miR-103-2*, miR-362-3p, miR-532-3p, miR-3180-3p, miRplus-E1035, miRplus-F1159 ↓ експресия: miR-505*

висимо от изтъкнатите противоречия поради участието на микро-РНКите в изграждането и контрола на вродения и придобит имунитет, бариерната функция на епитела, процесите на автофагия, апоптоза и регулация на възпалението, което може да се сравни с фина настройка на посттранскрипционния контрол, не е далече моментът, в който микро-РНКите ще участват във всички етапи от проследяване на пациентите с ХВБЧ и в тяхното персонализирано лечение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкото приложение на множеството неинвазивни серологични, фекални биомаркери разкрива различна степен на полезност, но и съществени слабости. Към днешна дата все още не е идентифициран онзи идеален биомаркер за диагноза, оценка и мониториране на ХВБЧ, който да е достъпен, неинвазивен, точен, чувствителен, специфичен и приложим в обикновени клинични условия. Очаква се, че употребата на един такъв биомаркер ще доведе от една страна до намаляване на инвазивните изследвания при тези пациенти, а от друга страна ще допринесе за постигане на основната насока в лечението – нюансирана и персонализирана терапия при ХВБЧ, като се постигне елегантно мониториране и надеждност при оценка ефективността от дадено лечение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agassandian M, Shurin GV, Ma Y., Shurin M. C-reactive protein and lung diseases. *Int J Biochem Cell Biol.*2014;53:77–88. doi: 10.1016/j.biocel.2014.05.016
2. an Rheenen PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diag-nostic meta-analysis. *BMJ.* 2010;341:c3369
3. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; 43: 246–252.
4. Annahazi, A.; Molnar T., Farkas K., Rosztóczy A., Incze O., Földesi I. et al., “Fecal MMP-9: a new noninvasive differential diagnostic and activity marker in ulcerative colitis” *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 19, no. 2, pp. 316–320, 2013.
5. Ashton, J. J.; Mossotto E., Ennis S., Beattie R. M..Personalising medicine in inflammatory bowel disease-current and future perspectives. *Transl Pediatr* 2019;8(1):56-69 .
6. Béres N.J., Kiss Z., Sztupinszki Z., Lendvai G., Arató A., Sziksz E., et al., “Altered mucosal expression of microRNAs in pediatric

- patients with inflammatory bowel disease,” *Digestive and Liver Disease*, vol. 49, no. 4, pp. 378–387, 2017
7. Chen, X. (2009). Small rnas and their roles in plant development. *Annual Review of Cell and Developmental*, 25:21–44.
8. Chung-Faye G., Hayee B., Maestranzi S., Donaldson N., Forgacs I., and Sherwood R., “Fecal M2-pyruvate kinase(M2-PK): a novel marker of intestinal inflammation,” *Inflam-matory Bowel Diseases*, vol. 13, no. 11, pp. 1374–1378, 2007
9. Click, B., Vargas E.J., Anderson A.M., Proksell S., Koutroubakis I.E., et al. Silent crohn’s disease: asymptomatic patients with elevated C-reactive protein are at risk for subsequent hospitalization. *Inflamm. Bowel Dis.* 21, 2254–2261 (2015)
10. Czub, E.; K.-H. Herzig, Szaflarska-Popawska A, Chlebowczyk U.G., Landowski P. et al. “Fecal pyruvate kinase: a potential new marker for intestinal inflammation in children with inflammatory bowel disease.” *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, vol. 42, no. 10, pp. 1147–1150, 2007
11. Czub, E.; K.-H. Herzig, Szaflarska-Popawska A, Chlebowczyk U.G., Landowski P et al. “Comparison of fecal pyruvate kinase isoform M2 and calprotectin in assessment of pediatric inflammatory bowel disease severity and activity,” *Acta Biochimica Polonica*, vol. 61, no. 1, pp. 99–102, 2014.
12. D’Haens G, Ferrante M, Vermeire S, et al. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:2218–2224
13. D’Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, et al. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol.* 2008;103:2007–2014.
14. De Lange, K.M.; Moutsianas, L.; Lee, J.C.; Lamb, C.A.; Luo, Y.; Kennedy, N.A.; Jostins, L.; Rice, D.L.; Gutierrez-Achury, J.; Ji, S.G.; et al. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat. Genet.* 2017;49, 256–261.
15. Denis MA, Reenaers C, Fontaine F, et al. Assessment of endoscopic activity index and biological inflammatory markers in clinically active Crohn’s disease with normal C-reactive protein serum level. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13:1100–1105.
16. Duvoisin, G.; Robert N. Lopez, Andrew S. Day, Daniel A. Lemberg, Richard B. Gearry, and Steven T. Leach Novel Biomarkers and the Future Potential of Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease. *Hindawi Mediators of Inflammation* Volume 2017, Article ID 1936315, 9 pages <https://doi.org/10.1155/2017/193631>
17. Ellinghaus, D.; Jostins, L.; Spain, S.L.; Cortes, A.; Bethune, J.; Han, B.; Park, Y.R.; Raychaudhuri, S.; Pouget, J.G.; Hubenthal, M.; et al. Analysis of five chronic inflammatory diseases identifies 27 new associations and highlights disease-specific patterns at shared loci. *Nat. Genet.* 2016;48, 510–518.
18. Eulalio, A., Huntzinger, E., and Izaurralde, E. (2008). Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. *Cell*, 132(1):9–14.
19. Falvey, J. D. et al. Disease activity assessment in IBD: clinical indices and biomarkers fail to predict endoscopic remission. *Inflamm. Bowel Dis.* 21, 824–831 (2015).
20. Farkas, K.; Z. Sarodi, A. Balint et al., “The diagnostic value of a new fecal marker, matrix metalloproteinase-9, in different types of inflammatory bowel diseases,” *Journal of Crohn’s & Colitis*, vol. 9, no. 3, pp. 231–237, 2015
21. Filipowicz, W., Bhattacharyya, S. N., and Sonenberg, N. (2008). Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics*, 9(2):102–114
22. Fineberg, S. K., Kosik, K. S., and Davidson, B. L. (2009). MicroRNAs potentiate neural development. *Neuron*, 64(3):303–309.
23. Florin TH, Paterson EW, Fowler EV, et al. Clinically active Crohn’s disease in the presence of a low C-reactive protein. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41:306–311
24. Friedman, R. C., Farh, K. K.-H., Burge, C. B., and Bartel, D. P. (2009). Most mammalian

- mrnas are conserved targets of micrnas. *Genome research*, 19(1):92– 105
25. Fuks, F. (2005). Dna methylation and histone modifications: teaming up to silence genes. *Current opinion in genetics & development*, 15(5):490–495
26. Gao, Q.; M. J. Meijer, F. J. Kubben et al., “Expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 in intestinal tissue of patients with inflammatory bowel diseases,” *Digestive and Liver Disease*, vol. 37, no. 8, pp. 584–592, 2005
27. Gao, Q.; M. J. Meijer, U. G. Schluter et al., “Infliximab treatment influences the serological expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 in Crohn’s disease”, *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 13, no. 6, pp. 693–702, 2007.
28. Gecse, K. B. et al. Impact of disease location on fecal calprotectin levels in Crohn’s disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 50, 841–847 (2015).
29. Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, et al. Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1190–1198.
30. Guay, C. & Regazzi, R. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 9, 513–521, doi:10.1038/nrendo.2013.86 (2013).
31. Gutierrez A, Holler E, Zapater P, et al. Antimicrobial peptide response to blood translocation of bacterial DNA in Crohn’s disease is affected by NOD2/CARD15 genotype. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:1641–1650
32. Hardt, P. D.; S. Mazurek, M. Toepler et al. “Faecal tumour M2 pyruvate kinase: a new, sensitive screening tool for colorectal cancer”. *British Journal of Cancer*, vol. 91, no. 5, pp. 980–984, 2004.
33. Haug U.; M. N. Wenthe, C. M. Seiler, D. Rothenbacher, M. W. Buchler, and H. Brenner. “Tumor M2 pyruvate kinase as a stool marker for colorectal cancer: stability at room temperature and implications for application in the screening setting” *Clinical Chemistry*, vol. 52, no. 4, pp. 782–784, 2006.
34. Henderson, P. et al. Serum C-reactive protein and CRP genotype in pediatric inflammatory bowel disease: influence on phenotype, natural history, and response to therapy. *Inflamm. Bowel Dis.* 21, 596–605 (2015)
35. Hong SN, Park C, Park SJ, et al. Deep resequencing of 131 Crohn’s disease-associated genes in pooled DNA confirmed three reported variants and identified eight novel variants. *Gut* 2016; 65:788–796.
36. Hyams J.; J. Markowitz, A. Otley et al. “Evaluation of the pediatric Crohn disease activity index: a prospective multicenter experience”, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 41, no. 4, pp. 416–421, 2005.
37. Jones, J. et al. Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn’s disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 6, 1218–1224 (2008)
38. Judd, T. A.; A. S. Day, D. A. Lemberg, D. Turner, and S. T. Leach, “Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease,” *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 26, no. 10, pp. 1493–1499, 2011.
39. Kalla R, Ventham NT, Kennedy NA, et al. *Gut* Published Online First: December 15, 2014 - doi:10.1136/gutjnl-2014-307891
40. Kapel, N.; N. Benahmed, A. Morali et al., “Fecal beta defensin-2 in children with inflammatory bowel diseases”, *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, vol. 48, no. 1, pp. 117–120, 2009
41. Kennedy, N. A. et al. Thiopurine withdrawal during sustained clinical remission in inflammatory bowel disease: relapse and recapture rates, with predictive factors in 237 patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 40, 1313–1323 (2014).
42. Kiss, L. S. et al. Early clinical remission and normalisation of CRP are the strongest predictors of efficacy, mucosal healing and dose escalation during the first year of adalimumab therapy in Crohn’s disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 34, 911–922 (2011).
43. Kiss, L. S. et al. High-sensitivity C-reactive protein for identification of disease

- phenotype, active disease, and clinical relapses in Crohn's disease: a marker for patient classification? *Inflamm. Bowel Dis.* 18, 1647–1654 (2012).
44. Kofla-Dlubacz, A.; M. Matusiewicz, M. Krzystek-Korpacka, and B. Iwanczak, "Correlation of MMP-3 and MMP-9 with Crohn's disease activity in children," *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 57, no. 3, pp. 706–712, 2012.
45. Kofla-Dlubacz, A.; M. Matusiewicz, E. Krzesiek, L. Noga, and B. Iwanczak, "Metalloproteinase-3 and -9 as novel markers in the evaluation of ulcerative colitis activity in children," *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, vol. 23, no. 1, pp. 103–110, 2014
46. Kolho, K. L.; T. Sipponen, E. Valtonen, and E. Savilahti, "Fecal calprotectin, MMP-9, and human beta-defensin-2 levels in pediatric inflammatory bowel disease," *International Journal of Colorectal Disease*, vol. 29, no. 1, pp. 43–50, 2014
47. Kopylov U, Rosenfeld G, Bressler B, et al. Clinical utility of fecalbiomarkers for the diagnosis and management of inflammatory boweldisease.*Inflamm Bowel Dis.*2014;20:742–756.
48. Lasson A, Stotzer POO, Ohman L, et al. The intra-individual variabilityof faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis.*J Crohns Colitis.* 2015;9:26–32
49. Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy ofinflammatory bowel disease.*Gastroenterology.* 2011;140:1817–1826.e2.
50. Lin JF, Chen JM, Zuo JH, et al. Meta-analysis: fecal calprotectin forassessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis.*2014;20:1407–1415.
51. Liu, J. Z., van Sommeren, S., Huang, H., Ng, S. C., Alberts, R., Takahashi, A., et al. (2015). Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nat. Genet.* 47 (9), 979–986. doi: 10.1038/ng.3359
52. Liu L.; J. He, X. Wei et al., "MicroRNA-20a-mediated loss of autophagy contributes to breast tumorigenesis by promoting genomic damage and instability", *Oncogene*, vol. 36, no. 42, pp. 5874–5884, 2017
53. Louis, E. et al. Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology* 142, 63–70 e65 (2012).
54. Louis,E.; C. Ribbens, A. Godon et al., "Increased production of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by inflamed mucosa in inflammatory bowel disease," *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 120, no. 2, pp. 241–246, 2000.
55. Lu, Z.-J.; J.-J. Wu, W.-L. Jiang et al., "MicroRNA-155 promotes the pathogenesis of experimental colitis by repressing SHIP-1 expression," *World Journal of Gastroenterology*, vol. 23, no. 6, pp. 976–985, 2017.
56. Makitalo, L.; H. Rintamaki, T. Tervahartiala, T. Sorsa, and K. L. Kolho, "Serum MMPs 7-9 and their inhibitors during glucocorticoid and anti-TNF-alpha therapy in pediatric inflammatory bowel disease," *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, vol. 47, no. 7, pp. 785–794, 2012.
57. Manfredi, M. A.; D. Zurakowski, P. A. Rufo, T. R. Walker, V. L. Fox, and M. A. Moses, "Increased incidence of urinary matrix metalloproteinases as predictors of disease in pediatric patients with inflammatory bowel disease", *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 14, no. 8, pp. 1091–1096, 2008
58. Masoodi, I. ; R. Kochhar, U. Dutta et al., "Fecal lactoferrin, myeloperoxidase and serum C-reactive are effective biomarkers in the assessment of disease activity and severity in patients with idiopathic ulcerative colitis,"*Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 24, no. 11, pp. 1768–1774, 2009.
59. Masoodi,I.; R. Kochhar, U. Dutta et al., "Evaluation of fecal myeloperoxidase as a biomarker of disease activity and severity in ulcerative colitis," *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 57, no. 5, pp. 1336–1340, 2012
60. Matsumoto A., Nakayama K.I., Hidden Peptides Encoded by Putative Noncoding

- RNAs. *Cell Structure and Function*. 2018; 43 (1) : 75-83
61. McGovern DP, Kugathasan S, Cho JH. Genetics of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2015; 149:1163–1176.
 62. Medina C.; and M. W. Radomski, “Role of matrix metalloproteinases in intestinal inflammation”, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 318, no. 3, pp. 933–938, 2006
 63. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:10513–8.
 64. Mosli, M. H. et al. C-Reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 110, 802–819 (2015).
 65. Nauseef, W. M. and H. L. Malech, “Analysis of the peptide subunits of human neutrophil myeloperoxidase”, *Blood*, vol. 67, no. 5, pp. 1504–1507, 1986.
 66. Palmieri O., Teresa Maria Creanza , Fabrizio Bossa , Tiziana Latiano , Giuseppe Corritore , Orazio Palumbo , Giuseppina Martino, Giuseppe Biscaglia, Daniela Scimeca, Massimo Carella, Nicola Ancona, Angelo Andriulli and Anna Latiano. Functional Implications of MicroRNAs in Crohn’s Disease Revealed by Integrating MicroRNA and Messenger RNA Expression Profiling. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 1580; doi:10.3390/ijms18071580
 67. Petersen BS, Spehlmann ME, Raedler A, et al. Whole genome and exome sequencing of monozygotic twins discordant for Crohn’s disease. *BMC Genomics* 2014; 15:564.
 68. Peterson, C. G. B.; E. Eklund, Y. Taha, Y. Raab, and M. Carlson, “A new method for the quantification of neutrophil and eosinophil cationic proteins in feces: establishment of normal levels and clinical application in patients with inflammatory bowel disease,” *The American Journal of Gastroenterology*, vol. 97, no. 7, pp. 1755–1762, 2002.
 69. Peyrin-Biroulet, L.; Julián Panés, William J. Sandborn, Séverine Vermeire, Silvio Danese, Brian G. Feagan, Jean-Frédéric Colombel, Stephen B. Hanauer S, Beth Rycroft. Defining disease severity in inflammatory bowel diseases: current and future directions. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2016; 14:348-354
 70. Ramasundara, M.; S. T. Leach, D. A. Lemberg, and A. S. Day, “Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease,” *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 24, no. 2, pp. 202–208, 2009
 71. Reinisch, W. et al. Factors associated with short- and long-term outcomes of therapy for Crohn’s disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 13, 539–547.e2 (2015).
 72. Reinisch, W., Wang, Y., Oddens, B. J. & Link, R. C-Reactive protein, an indicator for maintained response or remission to infliximab in patients with Crohn’s disease: a post-hoc analysis from ACCENT I. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 35, 568–576 (2012).
 73. Røseth AG, Aadland E, Jahnsen J, et al. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion.* 1997; 58:176–180.
 74. Roszak, D.; M. Galecka, W. Cichy, and P. Szachta, “Determination of faecal inflammatory marker concentration as a noninvasive method of evaluation of pathological activity in children with inflammatory bowel diseases”, *Advances in Medical Sciences*, vol. 60, no. 2, pp. 246–252, 2015.
 75. Rutgeerts, P. et al. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn’s disease. *Gastroenterology* 117, 761–769 (1999).
 76. Salem M, Ammitzboell M, Nys K, et al. ATG16L1: a multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. *Autophagy* 2015; 11:585–594
 77. Salmela, M.T.; T.T. MacDonald, D. Black et al., “Upregulation of matrix metalloproteinases in a model of T cell mediated tissue injury in the gut: analysis by gene array and in situ hybridisation”, *Gut*, vol. 51, no. 4, pp. 540–547, 2002.

78. Sangfelt, P.; M. Carlson, M. Thorn, L. Loof, and Y. Raab, "Neutrophil and eosinophil granule proteins as markers of response to local prednisolone treatment in distal ulcerative colitis and proctitis", *The American Journal of Gastroenterology*, vol. 96, no. 4, pp. 1085–1090, 2001.
79. Saunders MA, Liang H, Li W-H. Human polymorphism at microRNAs and microRNA target sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:3300–5
80. Scarpa M, D'Inca R, Basso D, et al. Fecal lactoferrin and calprotectin after ileocolonic resection for Crohn's disease. *Dis Colon Rectum*. 2007;50:861–869.
81. Sipponen T, Björkstén CGAF, Färkkilä M, et al. Faecal calprotectin and lactoferrin are reliable surrogate markers of endoscopic response during Crohn's disease treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45:325–331
82. Solberg IC, Hoivik ML, Cvancarova M, et al. Risk matrix model for prediction of colectomy in a population-based study of ulcerative colitis patients (the IBSEN study). *Scand J Gastroenterol*. 2015;50:1456–1462.
83. Soroosh A., Marina Koutsoumpa, Charalabos Pothoulakis, Dimitrios Iliopoulos. Functional role and therapeutic targeting of microRNAs in Inflammatory Bowel Disease *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (November 16, 2017). doi:10.1152/ajpgi.00268.2017
84. Tahamtan A, Teymoori-Rad M, Nakstad B and Salimi V (2018) Anti-Inflammatory MicroRNAs and Their Potential for Inflammatory Diseases Treatment. *Front. Immunol.* 9:1377. doi: 10.3389/fimmu.2018.01377
85. Tang, Q.; Q. Ji, W. Xia et al., "Pyruvate kinase M2 regulates apoptosis of intestinal epithelial cells in Crohn's disease", *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 60, no. 2, pp. 393–404, 2015.
86. Theede K, Holck S, Ibsen P, et al. Fecal calprotectin predicts relapse and histological mucosal healing in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22:1042–1048
87. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, et al. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology*. 2002;123:450–460
88. Travis SP, Farrant JM, Ricketts C, et al. Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut*. 1996;38:905–910.
89. Ventham NT, Kennedy NA, Nimmo ER, Satsangi J. Beyond Gene Discovery in Inflammatory Bowel Disease: The Emerging Role of Epigenetics *Gastroenterology*. 2013 Aug;145(2):293–308. doi: 10.1053/j.gastro.2013.05.050. Epub 2013 Jun 8
90. Viennois E., Zhao Y., Kwon Han M., Xiao B., Zhang M., Prasad M., et al. Serum miRNA signature diagnoses and discriminates murine colitis subtypes and predicts ulcerative colitis in humans. *Scientific Reports* | 7: 2520 | DOI:10.1038/s41598-017-02782-1
91. Walsh, A.J.; Robert V. Bryant and Simon P. L. Travis Current best practice for disease activity assessment in IBD. *GASTROENTEROLOGY & HEPATOLOGY VOLUME 13 | OCTOBER 2016* | 567
92. Wang C. and Chen J. MicroRNAs as therapeutic targets in intestinal diseases. *ExRNA* (2019) 1:23 <https://doi.org/10.1186/s41544-019-0026-9>
93. Wang S., Yan Huang, Cili Zhou, Huang Wu, Jimeng Zhao, Luyi Wu, Min Zhao, Fang Zhang, and Huirong Liu. *Gastroenterology Research and Practice* Volume 2018, Article ID 7565076, 10 pages <https://doi.org/10.1155/2018/7565076>
94. Wright EK, Kamm MA, De Cruz P, et al. Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery. *Gastroenterology*. 2015;148:938–947.e1.
95. Wu F, Zhang S, Dassopoulos T, et al. Identification of microRNAs associated with ileal and colonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16:1729–1738.
96. Yang L., Yaoyao Bian, Zhengjun Li, Yan Yan, Junyi Li, Wenlin Li, Li Zeng. Identification of potential biomarkers and pathways in ulcerative colitis with combined public mRNA and miRNA expression microarray data analysis *J Gastrointest Oncol* 2019;10(5):847–858 | <http://dx.doi.org/10.21037/jgo.2019.06.06>

97. Yang, D. H. et al. Usefulness of C-reactive protein as a disease activity marker in Crohn's disease according to the location of disease. Gut Liver 9, 80–86 (2015).
98. Yi JH, Wang D, Li ZY, et al. C-reactive protein as a prognostic factor for human osteosarcoma: a meta-analysis and literature review. PLoS One. 2014;9:e94632.
99. Yordanova M., Gerova D., Atanassova A., Galunska B. Adenosine Deaminase as a Useful Biomarker for Diagnosis and Monitoring of Inflammatory Bowel Disease. Clinical Laboratory. 2020, 66 (7), 1315-1323
100. Zeng Z, Mukherjee A and Zhang H (2019) From Genetics to Epigenetics, Roles of Epigenetics in Inflammatory Bowel Disease. Front. Genet. 10:1017. doi: 10.3389/fgene.2019.01017

Адрес за кореспонденция:

Антония Атанасова
Клиника по гастроентерология, ет. 11
УМБАЛ „Св. Марина“
бул. „Христо Смирненски“ 1
9010, Варна
тел. +359 898 346 321
e-mail: aniatanassova@abv.bg