

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИЧЕН ЦЕНТЪР ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ

КЛИНИКА ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ „АКАД. ТАШО ТАШЕВ“

УМБАЛ „ЦАРИЦА ЙОАННА – ИСУЛ“ ЕАД

Д-Р РАДИСЛАВ ВЕНЦИСЛАВОВ НАКОВ

**ОПТИМАЛНА СТРАТЕГИЯ ЗА ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ПАЦИЕНТИТЕ
С ВЪЗПАЛИТЕЛНИ ЧРЕВНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ**

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

„Доктор“

Научна специалност – гастроентерология – 7.1

Научен ръководител:

Доц. д-р Ваня Александрова Герова-Нанкова, дм

София, 2017г.

СЪДЪРЖАНИЕ

СЪКРАЩЕНИЯ.....	7
ВЪВЕДЕНИЕ.....	10
ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....	12
1. Възпалителни чревни заболявания (ВЧЗ).....	12
2. Етиопатогенетични аспекти на ВЧЗ.....	13
3. Интестинална бариерна дисфункция.....	18
3.1 Трефойл фактори.....	19
4. Екзогенни фактори, участващи в патогенезата на ВЧЗ.....	21
5. Генетични фактори при ВЧЗ.....	21
6. Ремисия.....	22
7. Релапс.....	23
8. Мукозно оздравяване и „дълбока“ ремисия.....	24
9. Диагноза на възпалителните чревни заболявания.....	26
9.1 Диагноза на болестта на Крон.....	26
9.1.1 Клинична картина.....	27
9.1.2 Ендоскопски изследвания.....	28
9.1.3 Образни методи.....	29
9.1.4 Хистология.....	30
9.2 Диагноза на улцерозния колит.....	31
9.2.1 Клинична картина.....	31
9.2.2 Ендоскопски изследвания.....	31
9.2.3 Образни методи.....	32
9.2.4 Хистология.....	33
10. Оценка на болестната активност, ремисията и клиничния отговор при възпалителните чревни заболявания.....	34

10.1	Клинична активност.....	34
10.1.1	Клинична активност при болест на Крон.....	34
10.1.2	Клинична активност при улцерозен колит.....	36
10.2	Ендоскопска активност.....	40
10.2.1	Ендоскопска активност при болест на Крон.....	40
10.2.2	Ендоскопска активност при улцерозен колит.....	42
11.	Нови ендоскопски техники.....	45
12.	Хистологична активност.....	46
13.	Лабораторни маркери.....	47
13.1	С-реактивен протеин (CRP).....	48
13.2	Скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ).....	48
13.3	Цитокини.....	49
13.4	Серумни антитела.....	50
13.5	Други лабораторни маркери.....	52
14.	Фекални маркери.....	53
14.1	Лактоферин.....	53
14.2	S100A12.....	54
14.3	Неоптерин.....	54
14.4	Полиморфонуклеарна еластаза.....	55
14.5	M2-пируват киназа.....	55
14.6	Други фекални маркери.....	55
15.	Калпротектин.....	56
15.1	Структура и функция на калпротектина.....	56
15.2	Фекален калпротектин при ВЧЗ.....	58
15.3	ФКП и мукозно оздравяване.....	59
15.4	ФКП и мониториране на терапията при ВЧЗ.....	60
15.5	Фекален калпротектин и риск от релапс.....	61

15.6 Ограничения в използването на фекалния калпротектин.....	61
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	65
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	67
1. Пациенти.....	67
2. Контролна група.....	74
3. Методи.....	75
3.1 Включващи и изключващи критерии.....	75
3.2 Анамнеза и статус на пациентите и контролите.....	75
3.3 Определяне на клиничната активност.....	75
3.4 Лабораторни изследвания - хематологични, биохимични, имунологични и микробиологични.....	78
3.5 Абдоминална ехография и допълнителни образни методи.....	78
3.6 Изследване на фекален калпротектин.....	78
3.7 Изследване на серумен TFF-3.....	80
3.8 Видеогастроскопия с биопсии.....	80
3.9 Видеоколоноскопия с биопсии. Определяне на ендоскопската активност по съответните индекси.....	81
3.10 Увеличителна хромоендоскопия с висока резолюция.....	84
3.11 Хистологично изследване.....	88
3.12 Статистически методи.....	90
3.13 Етични норми.....	91
РЕЗУЛТАТИ.....	92
1. Фактори, влияещи върху честотата на релапсиране при пациентите с ВЧЗ.....	92
2. Диагностичната стойност на ФКП при ВЧЗ и ролята на ФКП за определяне на активност, ремисия и мукозно оздравяване при пациенти с ВЧЗ.....	97

3. Стойности на ФКП при пациенти с БК в ендоскопска ремисия след дясна хемиколектомия.....	102
4. Съпоставяне на ФКП с конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност.....	103
5. Съпоставяне на стойностите на ФКП с клинични и ендоскопски индекси на активност на ВЧЗ.....	108
6. Роля на ФКП за мониториране на терапевтичния отговор.....	111
7. Роля на ФКП при предсказването на релапс при пациенти с ВЧЗ в ремисия.....	112
8. Роля на TFF3 при оценка на чревното възпаление.....	125
8.1 Стойности на TFF3 при контролната група.....	125
8.2 Стойности на TFF3 при пациенти с активно ВЧЗ.....	126
8.3 Стойности на TFF3 при пациенти с ВЧЗ в ремисия.....	126
8.4 Сравняване на стойностите на TFF3 между пациентите с активно ВЧЗ и тези с ВЧЗ в ремисия.....	126
8.5 Съпоставяне на нивата на TFF-3 с ФКП при пациенти с ВЧЗ.....	127
9. Роля на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и възможността ѝ за предсказване на релапс.....	129
ДИСКУСИЯ.....	132
1. Фактори, влияещи върху честотата на релапсиране при пациентите с ВЧЗ.....	132
2. Диагностичната стойност на ФКП при ВЧЗ и ролята на ФКП за определяне на активност, ремисия и мукозно оздравяване при пациенти с ВЧЗ.....	134
3. Стойности на ФКП при пациенти с БК в ендоскопска ремисия след дясна хемиколектомия.....	137
4. Съпоставяне на ФКП с конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност.....	138
5. Съпоставяне на стойностите на ФКП с клинични и ендоскопски индекси на активност на ВЧЗ.....	140
6. Роля на ФКП за мониториране на терапевтичния отговор.....	143
7. Роля на ФКП при предсказването на релапс при пациенти с ВЧЗ в ремисия.....	144
8. Роля на TFF3 при оценка на чревното възпаление.....	151
9. Роля на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и възможността ѝ за предсказване на релапс.....	154

ОПТИМАЛНА СТРАТЕГИЯ ЗА ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ПАЦИЕНТИТЕ С ВЧЗ. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	158
ИЗВОДИ.....	164
ПРИНОСИ.....	166
ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	168
БИБЛИОГРАФИЯ.....	170

СЪКРАЩЕНИЯ

БК – болест на Крон

ВЧЗ – възпалителни чревни заболявания

ГИ - гастроинтестинален

ГИТ - гастроинтестинален тракт

ДБЕ - двойнобалонната ентероскопия

КАТ - компютър-аксиална томография

КЕ - капсулна ендоскопия

КП - калпротектин

МБЕ – монобалонна ентероскопия

МО – мукозно оздравяване

НСПВС - нестероидни противовъзпалителни средства

ПМНЕ - полиморфонуклеарната еластаза

СЕ – спирална ентероскопия

СУЕ - скорост на утаяване на еритроцитите

УК – улцерозен колит

УХЕ – увеличителна хромоендоскопия

ФКП - фекален калпротектин

ЯМР - ядрено-магнитен резонанс

5-ASA - 5-аминосалицилова киселина

ANCA - анти-неутрофилните цитоплазмени антитела

ASCA - антителата срещу *Saccharomyces cerevisiae*

CAI - clinical activity index

CDAI - Crohn's Disease Activity Index

CDEIS - Crohn's disease endoscopic index of severity

CRP - C-реактивен протеин

ECCO - European Crohn's and Colitis Organization

ELISA - enzyme linked immunosorbent assay

EMS - ендоскопски Мейо субскор

GM-CSF – гранулоцито-макрофаген колония стимулиращ фактор

HBI - Harvey Bradshaw Index

IBD - Inflammatory Bowel Disease

IBS – Irritable Bowel Syndrome

IFN γ -интерферон гама

IL - интерлевкин

IOIBD - International Organization for the Study of Inflammatory Bowel Disease

MBL - манозо-свързващия лектин

M2PK - M2-пируват киназата

NLRs - NOD-like рецептори

PAMPs - pathogen associated molecular pattern-sensing

SES-CD - Simple endoscopic score for Crohn's disease

TFF 3 – тrefойл фактор 3

TFFs - тrefойл фактори

TGF β 1 – трансформиращ растежен фактор бета 1

TLRs - Toll-Like рецептори

TNF α - тумор некрозис фактор алфа

UCCIS - Ulcerative Colitis Colonoscopic Index of Severity

UC-DAI - Ulcerative Colitis Disease Activity Index

UCEIS - Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity

ВЪВЕДЕНИЕ

Възпалителните чревни заболявания (ВЧЗ), представени основно от улцерозен колит (УК) и болест на Крон (БК), са сериозно предизвикателство за пациентите, техните семейства и медицинските специалисти. Те протичат с редуване на релапси и ремисии. Фазите на активност имат различна продължителност и могат да се утежнят с локални и системни усложнения, някои от които са животозастрашаващи. Всичко това откъсва пациента от неговата среда, оказва негативно влияние върху психиката му, нарушава и затруднява социалната му активност, налага продължително лечение, което може да е причина за допълнителни здравни проблеми. ВЧЗ са социално значими заболявания, диагностиката, лечението и проследяването на които е свързано със значителни икономически и финансови загуби.

Основната находка при ВЧЗ е интестиналното възпаление, чиято локализация, разпространеност и тежест повлияват естествения ход на заболяванията (заедно с фактори, като възраст при диагностицирането, тютюнопушене, продължителност на заболяването, необходимост от приложение на кортикостероиди при диагностицирането и пр.) Интестиналното възпаление може да е налице дори при липса на гастроинтестинални симптоми и да е в основата на прогресивно чревно увреждане, повишена честота на инвалидизиране и влошаване качеството на живот на пациентите. Затова, от изключително значение е мониторирането на тежестта на интестиналното възпаление, за да се оцени ефикасността на провежданото лечение, да се изключат усложнения и да се предотврати прогресирането на заболяването.

Сред неинвазивните тестове за диагноза и проследяване на чревното възпаление най-голямо приложение намира изследването на фекалния

калпротектин (ФКП). Периодичното проследяване на чревното възпаление посредством изследване на ФКП дава възможност за пряк контрол върху протичането на тези заболявания. Въпреки това, определянето на точния интервал, през който пациентите трябва да бъдат проследявани остава трудна за дефиниране задача. Също така, не са ясни и точните гранични стойности на ФКП, предсказващи настъпването на релапс при пациенти в ремисия.

В световната литература се обсъжда потенциала и на редица други фекални и серумни маркери за оценката на чревното възпаление. Освен това, съществуват все повече клинични и ендоскопски индекси за оценка на болестната активност при ВЧЗ, като през последните години се появиха и хипотези за ролята на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и възможността ѝ за предсказване на релапс.

Поради наличието на множество маркери и индекси за оценка на чревното възпаление, е нужно изграждането на оптимална стратегия за проследяване на пациентите с ВЧЗ с цел оценка на ефикасността на провежданото лечение, изключване на усложнения (вкл. епителна дисплазия, колоректален рак и образуване на фиброзни стриктури), ранно откриване на релапсите по време на ремисия и провеждане на индивидуален терапевтичен подход с оглед задържането на ремисията.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Възпалителни чревни заболявания

Възпалителните чревни заболявания (ВЧЗ, Inflammatory Bowel Disease - IBD) са социално значими и засягат предимно хора в млада, творческа активна възраст. Имат хронично-рецидивиращ ход на протичане и боледуващите страдат през целия си живот. Според класификацията от Монреал (2005г.), ВЧЗ включват: болест на Крон, улцерозен колит, недетерминиран колит и неклассифициран колит (1).

Болестта на Крон е хронично идиопатично грануломатозно трансмурално възпалително заболяване на целия гастроинтестинален тракт (ГИТ). При БК има склонност към поява на ерозии, язви, пенетрации, абцеси и фистули на ГИТ. Болестта се характеризира със сегментно засягане и интермитентна активност, водеща до фиброза и обтурация, без златен стандарт за диагноза (1, 2).

Улцерозният колит е хронично възпалително заболяване на лигавицата на дебелото черво, рядко с наличие на грануломи в биопсичния материал. Засяга ректума и в различна степен цялото дебело черво, без прекъсване между засегнатите части (1, 2).

Недетерминираният колит е термин, запазен само за случаите с колектомия, при които и след пълно и цялостно патохистологично изследване е невъзможно да се постави окончателна диагноза „УК” или „БК”. При този тип колит има белези както на УК, така и на БК (1, 2).

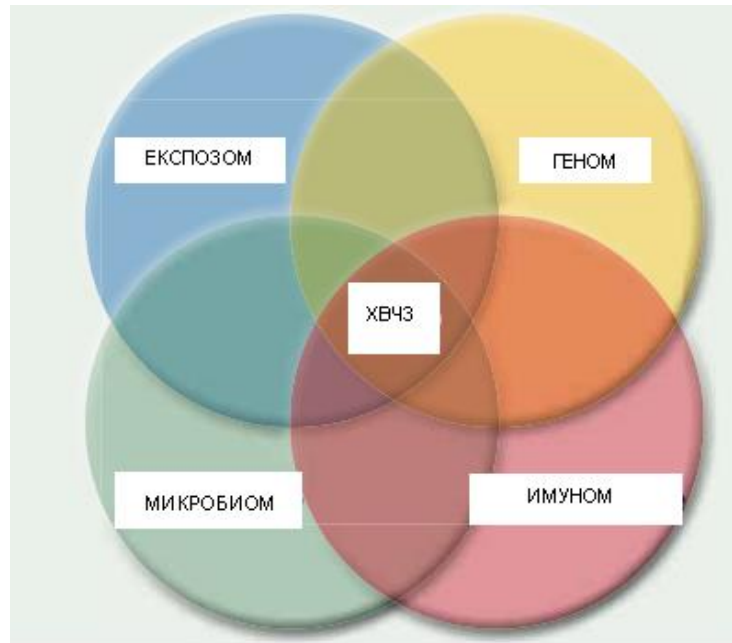
Неклассифицираният колит е диагноза, която се поставя при малкото случаи, когато дефинитивно разграничаване между УК, БК или друга причина за колит не може да се направи след анамнеза, статус, ендоскопски оглед,

хистология на множество лигавични биопсии и съответните образни изследвания (1, 2).

Честотата на ВЧЗ непрекъснато нараства. Честотата на УК е около 160/100 000 души население, а на БК 50/ 100 000 (3, 4). Заболяванията имат типичен градиент север-юг, т.е. по-голяма е честотата в Северна Европа и Северна Америка, в сравнение с южните части на тези континенти. За България липсват точни данни, но въз основа на досегашни проучвания се наблюдава тенденция за нарастване честотата на БК, при относително запазена честота на УК (3).

2. Етиопатогенетични аспекти на възпалителните чревни заболявания

При генетично предразположени индивиди взаимодействието на екзогенни (състава на нормалната чревна флора, хранителни антигени и други) и ендогенни фактори (мукозната бариерна функция, вродения и придобития имунитет) може да доведе до дисрегулация на мукозната имунна функция. По този начин могат да се оформят четири основни компоненти в патогенезата на ВЧЗ – експозом, геном, микробиом и имуном (**Фигура 1**) (5, 6).



Фигура 1. Основни компоненти в патогенезата на хроничните възпалителни чревни заболявания (ВЧЗ): експозом (фактори на околната среда), геном (генетична предиспозиция), микробиом (чревна микрофлора) и имуном (имунната система) (адаптирана по Fiocchi 2014).

Коменсалната микробна флора повлиява имунните процеси в червата на ниво секреция на антимикробни пептиди, регулаторни и ефекторни имунни клетки (7). Така симбиозата с коменсалните микроорганизми подпомага поддържането на интестинална имунологична хомеостаза, докато дисбиозата индуцира променени имунни отговори и предизвиква чревно възпаление (8, 9), което се асоциира с развитие на някои заболявания като ВЧЗ (7). Нормалното черво съдържа голям брой имунни клетки, съставлящи т.нар. мукозна имунна система, натоварена с функцията да запазва постоянството на организма спрямо антигени, проникнали от чревния лумен.

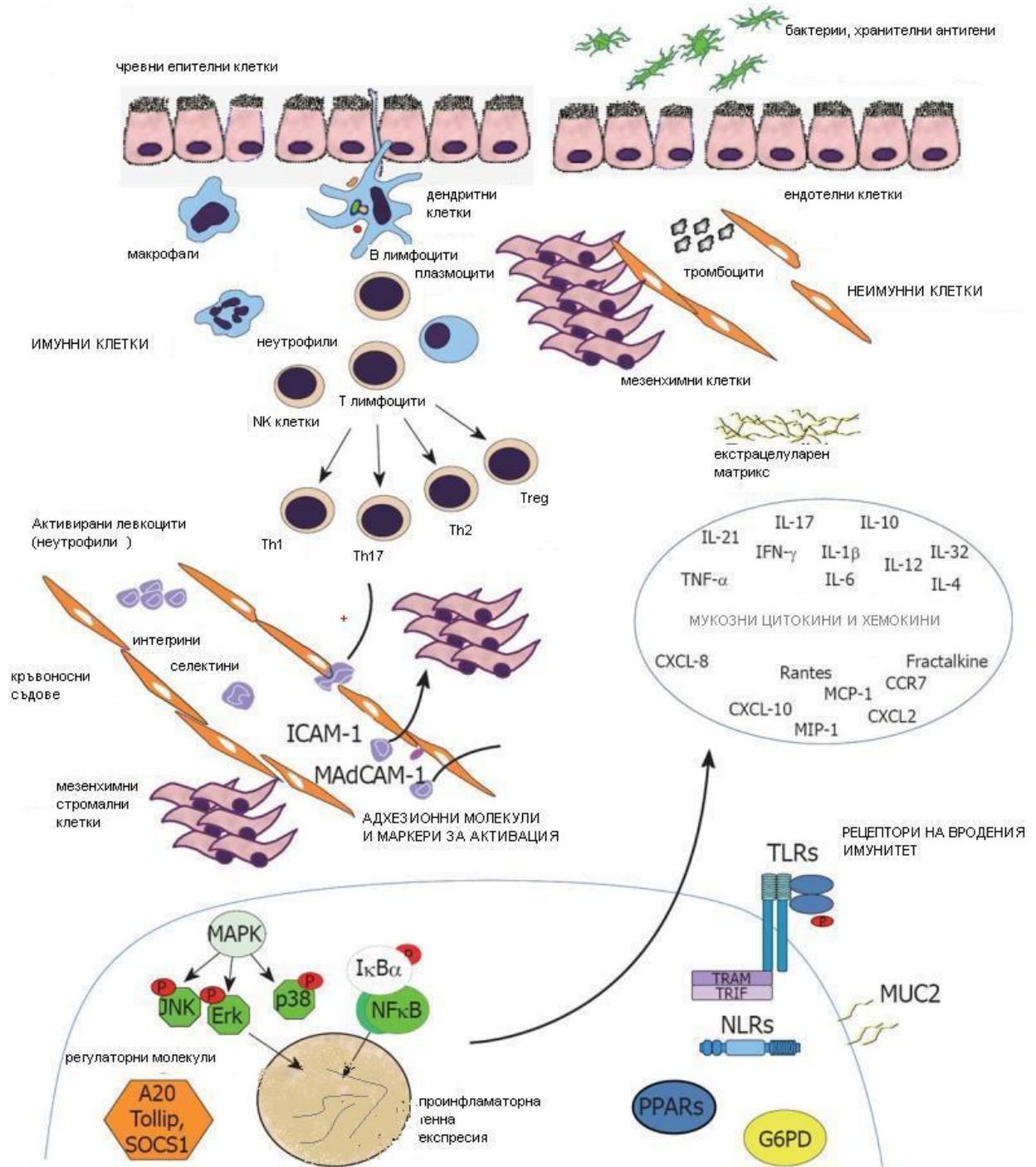
Оралният (мукозният) толеранс е отговорен за потискане на имунните отговори към хранителните антигени и коменсалната микробиота в чревния

лумен (6, 10). Част от механизмите, осигуряващи орален толеранс към вътрелуменното съдържимо, са клетъчна анергия, клонална делеция, индуциране на различни Т регулаторни лимфоцити (CD4⁺ или CD8⁺ CD25^{+/-} FoxP3⁺, Th3, Tr1 и други) секреция на потискащи цитокини (TGFβ1, IL-4, IL-10) и други (11). Секреторният IgA също има роля в поддържането на мукозния имунитет – той не активира комплемента по класическия път и ограничава имунния отговор на локално ниво (11). Не всички механизми на тази регулирана имунна супресия са известни. В същото време, освен толеранс, в лигавицата съществува определено ниво на т.нар. „физиологично възпаление“, което възпрепятства прекомерното разрастване на коменсалната или патогенната флора.

При ВЧЗ вероятно някои от механизмите на супресия в лигавицата са променени, което води до неконтролируемо възпаление. Предполага се, че генетична predisposition е асоциирана с чувствителност на вродения имунитет към коменсалната чревна флора. Първоначално възниква остро възпаление чрез рецептор-медирано разпознаване на микроорганизмите и/или техните продукти, т.нар. PAMPs - pathogen associated molecular pattern-sensing, от съответните рецептори: Toll-Like рецептори (TLRs), NOD-like рецептори (NLRs), цитозолни ДНК сензори, манозо-свързващия лектин (MBL – mannose-binding lectin) и други, разположени върху епителни клетки, професионалните антиген-представящи клетки, миофибробласти и други клетки в лигавицата (12). Активирането им води до увеличена продукция на ключови разтворими цитокини, хемокини, растежни фактори (13) като MCP-1, RANTES, IL-8, C3a, C5a, които привличат неутрофилите в тъканите на червото от системния кръвоток посредством взаимодействието между левкоцитния рецептор α4β7 (интегрин) и адресините на съдовия ендотел (например MadCAM1) (14). Отделят се още IFNγ, IL-1α, IL-1β, TNFα, IL-6,

които предизвикват увеличение на експресията на адхезионни молекули върху ендотелните клетки във вътрешността на кръвоносните съдове, което води до навлизане на допълнително количество неутрофили (13). Веднъж попаднали в тъканите, неутрофилите осъществяват фагоцитоза и отделят калпротектин, лактоферин и други белтъци в лумена на ГИТ, които могат да бъдат измерени при пациенти с ВЧЗ (5, 15). Описаната картина отговаря на остро възпаление, което обикновено отшумява в рамките на часове до дни, колкото е преживяемостта на самите неутрофили (16). Неутрофилите, от една страна могат да подпомогнат възстановяването на тъканите (18), а от друга – да съдействат за поддържане на възпалението и ремоделиране на лигавицата чрез способността им да секретират тумор некрозис фактор алфа (TNF α) (16). Активно, действащите локално цитокини TNF α и IL-1 β могат да преминат в кръвообращението и да окажат своите системни ефекти – хиперпирексия, потискане на апетита, индуцирайки кахексия (16), секреция на С – реактивен протеин (CRP), общо неразположение.

Други цитокини като IL-6, TGF β 1 и GM-CSF, също отделяни локално в местата на остро възпаление, съдействат за активацията и диференциацията на антиген-представящите клетки и Т-лимфоцитите (17), което задейства и механизмите на придобития имунитет. Активират се CD4⁺ Т клетки в ламина проприя, които секретират ексцесивно количество инфламаторни цитокини, които от своя страна въвличат и други възпалителни клетки (макрофаги, В клетки), с последващо развитие на хронично възпаление (**Фигура 2**). Тъй като при него преобладават макрофаги и лимфоцити, с живот от дни, седмици, дори години за лимфоцитите на имунната памет, хроничното възпаление е с голяма продължителност във времето (16). С такива характеристики е и възпалението, което се наблюдава в лигавицата на пациентите с ВЧЗ.



Фигура 2. Механизми на интестиналното възпаление (Адаптирана от F. Scaldaferri, World J Gastroenterol, 2010).

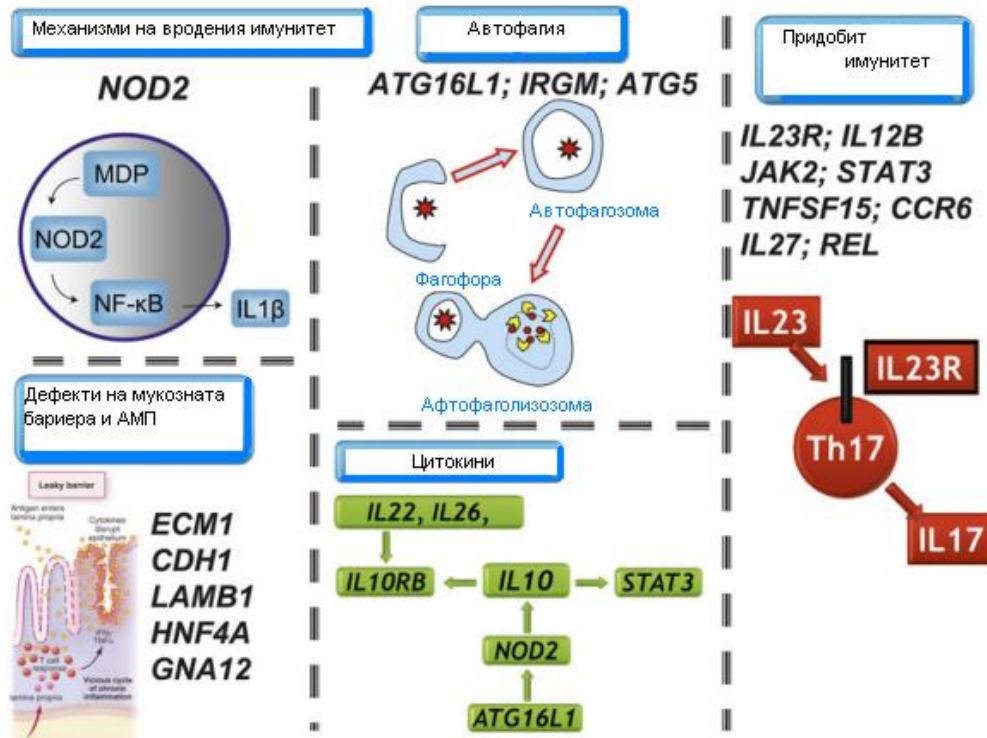
CD4⁺ Т клетките (хелпъри), промотиращи възпалението при ВЧЗ, са няколко типа – Th1 клетки, секретирани интерферон гама (IFN γ) и индуциращи трансмуралното грануломатозно възпаление при БК, Th2 клетки, секретирани IL- 4, 5 и 13, индуциращи по този начин повърхностното мукозно възпаление при УК, и Th17 лимфоцити (секретирани основно IL-17, IL-21), отговарящ за привличането на неутрофили към мястото на възпаление (5, 19). Освен в патогенезата на някои автоимунни заболявания, Th17 клетките участват и във физиологични функции в организма като защитата на организма срещу гъби и екстрацелуларни бактерии (20).

Всички тези имунологични механизми нормално възникват в отговор на наличието на инфекциозен агент, но обикновено след определено време се инхибират, за да се ограничи тъканната увреда. Смята се, че „избягването от контрола“ може да бъде един от механизмите за хронифициране на остро възпаление при ВЧЗ (21).

3. Интестинална бариерна дисфункция

Актуално направление в момента е разглеждане на ВЧЗ като дефекти в интестиналната бариера и дефицит на антимикробните пептиди (4, 9), свързани с увеличен интестинален пермеабилитет (22) – структурни белтъци като E-cadherin, β -дефензини, α -дефензини (**Фигура 3**). Според някои автори УК е заболяване с нарушена продукция на мукус (9). Намалената антимикробна активност в мукусния слой улеснява пенетрацията на микробни продукти от чревния лумен, последващо активиране на мукозната имунна система и отключване на възпалителни реакции със съответните тъканни изменения, характерни за УК. Също така, при активно ВЧЗ количеството на муцин-продуциращите гоблетови клетки е намалено и по този начин настъпват промени в дебелината и композицията на мукозната слой (23). Има данни, че мутациите в NOD2/CARD15, който разпознава бактерии чрез мурамил

дипептид и така участва в поддържането на интегритета на мукозната бариера, се асоциира с възникване на БК (Фигура 3) (21).



Фигура 3. Основни механизми, участващи в патогенезата на ВЧЗ (модифицирана по Lees, 2010, Gut).

3.1 Трефойл фактори

През последните години се натрупаха множество доказателства, подкрепящи значението на трефойл пептидите за протекцията на мукозната повърхност и за нейното възстановяване след увреда (24). Трефойл факторите (TFFs) представляват фамилия от три муцин-свързани пептиди (TFF1, TFF2 и TFF3), които се експресират в почти всички тъкани, съдържащи мукус-секретиращи клетки, като експресията им е най-силна в ГИТ (24).

Всеки TFF се свързва с уникален тип муцин. Така например, TFF1 се свързва с MUC5AC, TFF2 с MUC6, а TFF3 с MUC2 (25). TFF1 и TFF2 се локализируют предимно в стомаха (26), докато TFF 3 се намира преимуществено в мукозните клетки на тънкото и дебелото черво (24). Редица проучвания демонстрират предпазващата функция на TFFs в ГИТ, а също така и повишената им експресия на местата на мукозна увреда при ВЧЗ (27) и пептична язвена болест (28).

В началото на 80-те години е описан първият трефойл пептид – TFF2, тогава известен като панкреатичен спазмолитичен полипептид. Той е бил изолиран от странична фракция, получена по време на пречистването на инсулин от свински панкреас (29). Човешкият хомолог на TFF 2 се продуцира предимно от мукозните клетки, разположени в жлезите на корпуса и антрума на стомаха, по-малко количество се отделя от повърхностните фоликулни клетки на стомаха и Брюнеровите жлези в дуоденум (26). Идентифицирането на pS2, днес познат като TFF1, настъпва в следствие на клонирането на естроген-регулируещ ген от MCF-7 клетъчна линия, произхождаща от рак на гърдата (30).

Третият трефойл пептид, TFF3, е описан през 1991 в повторение от циклична ДНК на плъх, а две години по-късно е наблюдаван и в cDNA на човек (31). TFF 3 е наричан първоначално интестинален трефойл фактор, поради високата си експресия от гоблетовите клетки на тънкото и дебелото черво (24).

Количествените измервания на TFFs са важни инструменти за изясняване на биологичните функции на пептидите и за проучване на тяхната роля като биомаркери за чревно възпаление. Всичките три TFFs са налични в серум от здрави индивиди (32). Повишени серумни концентрации на трефойл пептидите се описват, както при имунохистохимични проучвания на IBD модели, така и при пациенти с IBD (33-35).

4. Екзогенни фактори, участващи в патогенезата на ВЧЗ

Скорешни проучвания в областта на чревната флора показват, че при ВЧЗ не е нарушен балансът между коменсалната и патогенна микрофлора, а по-скоро е намалено разнообразието на щамове в сравнение със здрави лица (36, 37). Промени в състава и количеството на коменсални бактерии се наблюдават както при пациенти с УК, така и при тези с БК. Експозицията на микроби по време на ранното детство се асоциира с предпазване от развитие на ВЧЗ (38), което е част от т.нар. хигиенна теория. Тази експозиция на коменсални микроорганизми е важно да се случи във възрастово-чувствителните периоди, когато се развива оралния толеранс (39).

Психосоматичните фактори като развод, смърт или болест в семейството, тежка раздяла, междуличностни конфликти или други стресови ситуации имат значение за влошаване на симптомите при ВЧЗ (15, 40). Ефектът на тютюнопушенето е различен при УК и БК. Рискът за развитие на УК при пушачи е с 60% по-нисък, отколкото при непушачи – т.е. тютюнопушенето намалява риска от развитие на УК. От друга страна, бившите пушачи имат 1,7 пъти по-висок риск от развитие на УК в сравнение с хора, които никога не са пушили. От друга страна, обаче, пушенето води до два пъти по-висок риск от развитие на БК (15, 41).

Оралните контрацептиви повишават риска от развитие на БК, но не и от УК (14, 41). Апендектомията е друг фактор, водещ до повишен риск от БК, но имащ протективна стойност при УК (14, 41).

5. Генетични фактори при възпалителните чревни заболявания

ВЧЗ са полигенни заболявания. Към момента са описани над 160 локуса на различни хромозоми, предразполагащи към заболяванията (42). Около 1/3 от тези генетични рискови фактори са общи както за БК, така и за УК, което е в

подкрепа на припокриващата се имунопатогенеза и на данните от епидемиологичните проучвания за наличие на двете заболявания в едни и същи фамилии, както и сходствата в отговора към дадени медикаменти (43). Описани са мутации и полиморфизми в рецептори, цитокини, антимикробни пептиди, и други (44). Генетичните фактори отговарят за част от патогенезата на заболяванията. Взаимодействията между гените и околната среда, или т.нар. епигенетични фактори, отговарят за фенотипната изява на конкретния генетичен терен.

Гените, асоциирани с ВЧЗ, могат да се разделят в няколко групи: свързани с вродения имунитет, дефекти в елементите на интестиналната бариера, автофагията, ендоплазмения ретикулум и метаболитния стрес; свързани с регулирането на придобития имунитет и свързани с развитието и ограничаването на възпалителния процес (**Фигура 3**).

6. Ремисия

Всички съвременни консенсуси за ВЧЗ дискутират състоянието на ремисия, но въпреки това, към момента няма напълно приета дефиниция. Определенията варират значително, в зависимост от контекста, в който се използват – клинично проучване, консенсус, лекарска или пациентска гледна точка.

При УК ремисия се приема при честота на дефекациите ≤ 3 /ден, без наличие на патологични примеси и без чувство за недоизхождане. Според препоръките на Световната организация по гастроентерология (WGO) ремисия се приема при Ulcerative Colitis Disease Activity Index (UC-DAI) ≤ 2 , което отговаря на лека до умерена клинична изява (45). От друга страна, консенсусите на European Crohn's and Colitis Organization (ECCO) (46, 47) и International Organization For the Study of Inflammatory Bowel Disease (IOIBD) (48)

дефинират ремисията като „пълно отзвучаване на симптомите и наличие на ендоскопско мукозно оздравяване“. Също така, според Консенсусите на ЕССО (46, 47), дефинирането на ремисията по мнението на отделните пациенти има 86% чувствителност и 76% специфичност по отношение на регулаторно приетата ремисия (т.е. липса на видимо кървене и липса на лигавична ранимост). За отбелязване е, че нито Американската колегия по гастроентерология (49), нито Британското дружество по гастроентерология (50) дават точно определение за ремисия.

Критерият използван в повечето клинични проучвания за определяне на клиничната ремисия при БК е CDAI <150. Докато CDAI остава главният индекс за оценка на резултатите от проучвания за БК, това ще остане и обичайната дефиниция за ремисия. В няколко проучвания, стойности на биологичен индекс на Brignola < 100 са използвани като изискване за ремисия. (51, 52). Този индекс има обективни предимства, но не се използва в клиничната практика.

7. Релапс

Въпросът за релапс при ВЧЗ е също дискутабилен. Общоприето е, че релапсът е влошаване на активността на заболяването, т.е. обостряне на симптоматиката при пациенти с установено ВЧЗ, които са в клинична ремисия. Тази дефиниция се основава на използването на индекси за клинична активност, като CDAI и UCDAI. Измененията в тези индекси се приемат като предиктори на релапса при пациенти с ВЧЗ.

Така например, стойности на CDAI > 150 с повишаване между 70 и 100 (според различни източници) в сравнение с изходната стойност се приема за релапс при БК (52). При УК, според някои автори, наличието само на ректално кървене е достатъчно за дефиниране на релапс, според други автори

комбинацията от ректално кървене, повишена честотата на дефекациите и патологичен ендоскопски образ на дебелочревната лигавица са нужните критерии за дефиниция на релапса (53).

Конкретен проблем на повечето индекси е, че включват субективни критерии и симптоми, следователно, те са мярка за тежестта на заболяването, а не за мукозната възпалителна активност. В допълнение на това, в индекси като CDAI са включени и екстраинтестинални прояви (т.е. артралгия, ирит и др.), които имат много малка или никаква връзка с чревната възпалителна активност. Друг недостатък на използването на клинични прояви (болка, диария, повишена температура, неразположение) за предсказване на рецидив на болестта е, че посочените параметри са същите като тези, които се опитваме да предскажем.

8. Мукозно оздравяване и „дълбока“ ремисия

През последните години целта в лечението на ВЧЗ е постигането на мукозно оздравяване и „дълбока“ ремисия, чрез приложение на подхода “treat-to-target” (54).

Един от първите клиницисти използвали термина „оздравяване“ или „мукозно оздравяване“ за ВЧЗ е д-р Бъртън Корелиц, бивш ръководител на Клиниката по гастроентерология в болница Леонкс Хил в Ню Йорк (55). Той дефинирал този термин като липса на хистологични промени в лигавицата, но поради трудностите в използването на тези дефиниция в клиничната практика, по късно ревизирал определението като липса на възпалителни промени („оздравяла мукоза“) през погледа на ендоскописта (56). Тази дефиниция, обаче, не взема под внимание, това че в ендоскопски нормално изглеждаща мукоза, все още може да има възпалителни изменения на микроскопско ниво. Друг проблем са разликите в индивидуалните преценки и опита на

ендоскопистите, независимо от използваната техника (57). Също така, съществуват случаи, при които чревната лигавица изглежда напълно нормална ендоскопски, но нивата на фекален калпротектин (ФКП) са значително повишени. Това би се интерпретирало като ендоскопски ремисия, но не и като биохимична ремисия, най-вероятно отразяваща и липсата на хистологична ремисия с наличие на неутрофили в стената на лигавицата. Добре установено е, че ФКП корелира по-добре с хистологичната находка (поне при УК) в сравнение със серумните маркери или с ендоскопията (58).

Въпреки това, по настоящем златният стандарт за оценка на „мукозно оздравяване“ е ендоскопското изследване, макар и все още да липсва напълно валидирана дефиниция за това какво точно представлява „мукозно оздравяване“ (48, 59, 60). През 2007 година Международната организация за изучаване на ВЧЗ (IOIBD) предложи консенсус за „мукозно оздравяване“ при УК: „липса на ранимост, кръв, ерозии и язви във всички видими сегменти на чревната лигавица“ (48). Прави впечатление, че според IOIBD наличието на абнормен съдов рисунок е съвместимо с мукозно оздравяване. В клиничните проучвания АСТ1 и ULTRA 2 „мукозно оздравяване“ се приема при ендоскопски Mayo субскор от 0 или 1 (61-63).

При БК, IOIBD определя „мукозно оздравяване“ като липса на язви при ендоскопско изследване, но отбелязва, че дефиницията има нужда от допълнително валидиране (64).

„Дълбока ремисия“ е друг термин, дискутиран през последните години като цел на лечението при ВЧЗ. За съжаление, определението на термина не е ясно от това на мукозното оздравяване. Nommes определя „дълбока ремисия“ като състояние на клинична, биологична, ендоскопска и по възможност хистологична ремисия, свързана с мукозно оздравяване (65). В проучването

EXTEND, „дълбока ремисия” се приема при наличие на клинична ремисия (CDAI < 150) и „мукозно оздравяване”, оценено ендоскопски по Crohn’s Disease Endoscopic Index of Severity (CDEIS) (66). При УК, няма предложена дефиниция за дълбока ремисия. Определението би могло да бъде съчетание на клинична и ендоскопска ремисия.

Всички тези дефиниции предстои да бъдат допълнително валидирани в големи проспективни проучвания. В близко бъдеще, концепцията за дълбока ремисия би трябвало да включва трансмурално (при БК) и хистологично (при УК) оздравяване.

9. Диагноза на възпалителните чревни заболявания

9.1 Диагноза на болестта на Крон

Все още не съществува „златен стандарт“ за диагностициране на БК, именно поради това, тази задача е трудна за съвременния клиницист. През 1997 Lennard-Jones и Shivananda дефинират широко признати критерии за диагноза на БК, които включват макроскопска сегментност на болестта, трансмурално възпаление (наличие на фистула или абсцес), фиброза и хистологични критерии (лимфоидни агрегати, сегментно възпаление или грануломи) (67). Според тези критерий, БК се диагностицира при наличието на гранулома и поне още един критерий, или при липсата на гранулома, но при наличието на три други критерия. При наличието на два признака, но при отсъствие на грануломи, БК е вероятна като диагноза (67). Все пак може да се каже, че тези критерии са прекалено строги за ранна БК и са по-подходящи за БК с усложнения.

Според съвременните разбирания и според критериите на ЕССО, диагнозата на БК се базира на комбинацията от клиничната картина и резултатите от ендоскопските, хистологичните, радиологичните,

хирургичните, биохимичните и серологичните изследвания (47). Генетичните тестове все още не се препоръчват за рутинната диагностика и проследяване на БК (47).

9.1.1 Клинична картина

Клиничната картина е много хетерогенна и зависи основно от локализацията на болестта. Хроничната диария е най-честия симптом, като засяга около 85 % от пациентите (68). В повечето случаи тя се различава от инфекциозната диария по това, че продължава повече от 6 седмици (69). Абдоминалната болка е налице при 70 %, а загубата на тегло при 60% от пациентите преди поставянето на диагнозата (67). Кръв и/или слуз в изпражненията има при 40-50% от болните с Крон колит, което е по-рядко, в сравнение с тези с УК (70). Освен това се описват и оплаквания като повишена температура, ректална болка и адинамия. При 10% от пациентите може да има налични перианални фистули по време на диагностицирането (71).

Около една трета от пациентите с БК могат да имат екстраинтестинални прояви като периферна артропатия, аксиален артрит, очно засягане (увеит, еписклерит), кожни прояви (еритема нодозум, пиодерма гангренозум) или хепатобилиарни заболявания (първичен склерозиращ холангит) (72). Екстраинтестиналните прояви са по-чести при БК, засягаща колона, а понякога могат да се появят и преди ГИ симптоматика (73).

Обикновено има дълъг интервал между появата на първите симптоми и диагностицирането на болестта на Крон. Пациентите могат да се оплакват от сравнително неясни или периодични симптоми в продължение на месеци и години преди диагнозата да бъде заподозряна. Непредсказуемият клиничен ход увеличава трудността за диагностициране. В България диагнозата болест на Крон се забавя средно с 4 години (74).

9.1.2 Ендоскопски изследвания

Добре установено е, че колоноскопията с взимане на множествени биопсии е първа линия за диагностика на БК със засягане на колона (75). Илеоскопията с биопсии се постига при поне 85% от пациентите и значително увеличава диагностичната точност (75, 76).

Типичната ендоскопска картина е редуването на зони с възпалена лигавица и зони с невъзпалена лигавична повърхност („скип лезии“). Възможно е ректумът да не е засегнат (77). Характерно е и наличието на малки, дълбоки афти или лонгитудинални, полигонални язви. При по-продължително заболяване е характерен т. нар. „калдъръмен” вид на лигавицата (cobble stoning) (78). Наличието на стриктури, фистули, фисури и кожни тагове на ануса са други особености, видими по време на ендоскопия. Препоръчва се осъществяване на езофагогастродуоденоскопия при всички новодиагностицирани пациенти с БК (79).

Изследването на цялото тънко черво винаги е било диагностично предизвикателство. По-новите ендоскопски методики като тънкочревната капсулна ендоскопия (КЕ), двойно балонната ентероскопия (ДБЕ), монобалонната ентероскопия (МБЕ) и спиралната ентероскопия (СЕ) създават условия за това.

КЕ е от полза при диагностицирането на БК с тънкочревна локализация. При пациенти с неклассифициран колит, КЕ може да послужи като метод за диференциална диагноза между БК и УК. КЕ има по-висока чувствителност сравнено с ядрено-магнитния резонанс (ЯМР) и компютър-аксиалната томография (КАТ) за диагноза на малки чревни лезии и най-вече за установяване на повърхностни лигавични изменения (80). Ограничения в приложението на КЕ са високата цена на изследването и невъзможността за

биопсирани. Също така локализацията на визуализираните лезии е трудна. Контраиндикации за метода са суспекции или данни за интестинални обструкции и стриктури.

МБЕ и ДБЕ имат по-висока чувствителност за установяване на тънкочревни лезии, сравнено с радиологичните техники (81). Въпреки това, изпълнението на процедурата е трудно и понякога се ограничава от тежестта на проксимално разположените възпалителни изменения, поради възможността от потенциални усложнения, които са по-чести при ДБЕ. По-лесна за изпълнение и с по-малко усложнения е СЕ, особено най-новата ѝ вариация – моторизираната СЕ, въведена буквално преди месеци, която позволява за около 20 мин да се достигне до над 250 см след лигаментум Трайчи (82). Тези методи се използват, когато е нужно вземането на биопсии от определени тънкочревни участъци или пък се налагат терапевтични намеси, напр. дилатация на стриктури.

9.1.3 Образни методи

Рентгеновото проследяване с бариева суспензия и конвенционалната ентероклиза все още са често използвани за оценка на тънкото черво при БК (47). Въпреки това, тези методи излагат пациента на радиация, не са подходящи за проследяване и са с ниска чувствителност (47).

Настоящите радиологични стандарти за оценка на тънкото черво са КАТ и ЯМР ентéroграфиите. И двете техники могат да установят активността и разпространението на болестта, базирайки се на измененията на чревната стена и прилежащите ѝ структури, както и на повишеното интравенозно контрастно усилване (83). Това са и най-точните методи за оценка на наличието на екстралуменни усложнения. КАТ и ЯМР имат сходна диагностична точност за детекция на тънкочревни възпалителни изменения

(84). КАТ е по-достъпен и по-бърз за изпълнение метод, но поради излагането на радиация не е подходящ за проследяване. В някои центрове ЯМР ентерографията или ЯМР ентероклизата са изместили радиационно-обременяващите техники при диагнозата и проследяването на БК.

Абдоминалната ехография е от полза за оценка на болестната активност, особено при БК с локализация в илеума (85, 86). Чрез абдоминалната ехография е възможна първоначална и динамична преценка за тежестта и локализацията на ВЧЗ и усложненията им, като има значима връзка между размера на стената и тежестта (86). Използването на контраст-усилена ехография и/или доплерова ехография, допълнително увеличава чувствителността и специфичността на метода (87). Въпреки това, трудностите при визуализиране на по-дълбоко разположени чревни сегменти и голямата зависимост от опита на ехографиста са ограничения на метода (47, 86).

9.1.4 Хистология

Чрез хистологичното изследване се поставя окончателната диагноза БК. При това заболяване възпалителните изменения са трансмурални и мултифокални, като е възможно наличието на грануломи. Типичните хистологични изменения за БК, наблюдавани в биопсиите от колона, са фокални (сегментни или непродължителни) изменения на криптовата архитектура, заедно с наличието на фокално хронично възпаление (наличие на лимфоцити и плазмоцити), грануломи и запазване на муцина в активните участъци (47, 88, 89). За пробите от илеума са характерни същите изменения, заедно с нарушение на архитектурата на вилите. Грануломите, дефинирани като колекция от епителоидни хистиоцити, се смятат за патогномонични за БК, когато са налични в ламина проприя и не са асоциирани с активните изменения на криптите (89, 90). Асоциираните с криптите грануломи се описват и при УК

и затова не са надеждни при разграничаването между БК и УК (90). Именно наличието на грануломи е основна хистологична находка в критериите на Lennard-Jones (67).

9.2 Улцерозен колит

9.2.1 Клинична картина

Симптоматиката на УК зависи от разпространението и тежестта на заболяването и най-често включва кървава диария, ректално кървене и/или фекална инконтиненция (91). Основният симптом на заболяването е наличието на видима кръв в изпражненията, който се съобщава от над 90% от пациентите. И при УК, подобно на БК, намаляването на консистенцията на изпражненията за повече от 6 седмици, отдиференцира заболяването от инфекциозната диария (92).

Началото на УК обикновено е скрито и симптоматиката е налична със седмици или месеци преди диагностицирането (91). Заболяването може да се прояви с интермитентни епизоди или пък с внезапно начало (при около 15%), включващо и системни оплаквания като загуба на тегло, висока температура, тахикардия, гадене и повръщане (93). Екстраинтестиналните прояви, специално периферната или аксиалната артропатия, еписклерита и еритема нодозум, могат да се проявят в около 10 % от случаите, като рядко са налични преди интестиналните прояви (94). Тромбемболизмът е по-чест при УК, отколкото при общата популация, като често е асоцииран с панколит и активно заболяване (95).

9.2.2 Ендоскопски изследвания

В повечето случаи диагнозата УК може да се постави след извършване на сигмоидоскопия с биопсии. При пациенти с тежък активен УК колоноскопията не е препоръчителна, поради риск от усложнения. Отличителният ендоскопски

белег за УК са симетричните и непрекъснати възпалителни промени, които започват в ректума и се разпространяват проксимално без прекъсване по цялото продължение на дебелочревната лигавица. Най-ранната ендоскопска характеристика на УК е намаляването на нормалния съдов рисунок, заедно с наличието на еритем и едем на лигавицата. Това е ендоскопското описание, отговарящо на лек УК. Умерено активният колит се характеризира с тотална загуба на съдов рисунок, наличие на кръв на повърхността на лигавицата, ерозии, груба грануларност и ранимост на лигавицата (кървене при лек допир). За тежкият колит са типични спонтанно кървене и язви (96-102). За разлика от БК, язвите при УК винаги са ограничени в лигавицата. Наличието на дълбоки язви е лош прогностичен белег (97). При продължително заболяване, лигавичната атрофия може да доведе до нарушена или липсваща хаустрация, стеснение на лумена и постинфламаторни полипи (псевдополипи).

9.2.3 Образни методи

При всички пациенти с внезапна атака на УК е необходима обзорна рентгенография на коремни органи (103). Това е най-достъпния и най-широко използвания радиологичен метод за диагностика на УК. Той е информативен по отношение разпространението на болестта, наличието на усложнения като токсичен мегаколон и може да установи наличието на неочаквана газ в коремната кухина. Последното усложнение е възможно при пациенти на високодозова кортикостероидна терапия (104).

Все пак трябва да се има в предвид, че обзорната рентгенография не е с висока чувствителност, обременява радиационно пациента и понякога може да изпусне наличието на свободна газ в коремната кухина. КАТ има по-добра диагностична точност от обзорната рентгенография по отношение установяването на разпространението на УК и наличието на усложнения (104).

С напредването на ендоскопията, иригографията се използва все по рядко. Въпреки това, тя все още намира приложение при диагностиката на УК, а понякога даже е от изключителна важност – напр. при оценка на колонни стриктури, които не могат да бъдат преминати ендоскопски - бариеровото изследване предоставя информация за тяхното разположение, дължина, диаметър и позволява визуализирането на колона след мястото на стриктурата.

Съществуват няколко проучвания върху ограничен брой пациенти относно ролята на КАТ и ЯМР–колонографията в диагностиката на УК. Резултатите от тях са противоречиви, а визуализирането на малки изменения на мукозата като ерозии или плоски полипи е трудно (105). Поради тези ограничения, към настоящия момент, виртуалната колоноскопия не е алтернатива на конвенционалната колоноскопия при пациенти с УК.

Абдоминалната ехография е полезен метод за оценка на чревното възпаление с чувствителност от 80–90% (106). При УК, той има приложение в мониторирането на болестната активност, разпространението и ефекта от лечение, съществуват и първоначални данни за това, че може да предскаже и хода на болестта (107). Съществува значима взаимовръзка между сонографски измерения размер на стената и тежестта на заболяването (86). Доплеровият ултразвук на артерия мезентерика супериор и инфериор се използват за оценка на болестната активност и риска от релапс (108).

9.2.4 Хистология

При пациентите с УК, хистологичното изследване има важна роля в диагнозата, оценката на болестната активност и установяването на интраепителни неоплазии или дисплазии. Хистопатологичните характеристики, наблюдавани при УК, могат да се разделят на три групи – нарушаване на архитектурата на криптите, изменения на епитела и възпалителни характеристики (89).

Разклоняването и деформацията на криптите, криптовата атрофия и нарушаването на повърхността спадат към първата група. Към епителните изменения се причисляват изчерпването на муцина и метаплазията на Панетовите клетки. Възпалителните характеристики включват повишена клетъчна инфилтрация в ламина проприя, базална плазмоцитоза, базални лимфоидни агрегати и наличие на еозинофили в ламина проприя.

10. Оценка на болестната активност, ремисията и клиничния отговор при ВЧЗ

10.1 Клинична активност

10.1.1 Клинична активност при болест на Крон

Съществуват редица индекси за оценка на болестната активност при БК, част от тях са представени на **Таблица 1**.

Таблица 1: Индекси за оценка на болестната активност при БК.

Индекс за активност	Референция	Показатели
CDAI	Best et al 1976	Диария, абдоминална болка, общо състояние, екстраинтестинални прояви, употреба на антидиарийни средства, наличие на абдоминална маса, хематокрит, тегло
HBI	Harvey and Bradshaw 1980	Брой изхождания, абдоминална болка, общо състояние, екстраинтестинални прояви, абдоминална маса
Van Hees index (Dutch index)	Van Hees et al 1980	Серумен албумин, СУЕ, Quetelet индекс (тегло x 10/ръст x ръст), абдоминална маса, пол, температура, консистенция на изпражненията, резекция, екстраинтестинални прояви
Oxford index	Muren et al 1984	Болка, спазми или кръв и слуз, перианални усложнения, фистула, други усложнения, абдоминална маса, загуба на тегло, температура, хемоглобин
Cape Town index	Wright et al 1985	Болка, диария или кръв и слуз, общо състояние, усложнения, абдоминална маса, тегло, температура, хемоглобин
PCDAI	Huams et al 1991	Болка, диария, общо състояние, тегло и ръст, абдоминална маса, периректална болест, екстраинтестинални прояви, хематокрит, СУЕ, серумен албумин
PDAI	Irvine 1995	Изпускане на фистулите, болка/нарушена активност, нарушена сексуална активност, перианална болест, степен на задебеление

Crohn's disease activity index (CDAI)

Най-често използваният в клиничните проучвания индекс за оценка на болестната активност при БК е CDAI, състоящ се от осем клинични параметъра (**Таблица 1**) (109).

Като клиничен отговор се определя намаляването на CDAI с поне 100 точки, спрямо изходната стойност ($\Delta\text{CDAI} \geq -100$), въпреки че някои клинични проучвания приемат като отговор редуцирането със 70 точки ($\Delta\text{CDAI} \geq -70$) (47).

CDAI скорът не се използва активно в ежедневната клинична практика, поради сложното му изчисление и необходимостта от воденето на 7-дневен дневник на симптомите. Индексът не е подходящ и за пациенти с илеоколонна резекция или стома и не е точен при пациенти с фистулизираща или стенозираща болест. Ограничение на CDAI е и голямата тежест в общата оценка на показателите „общо състояние“ и „сила на коремната болка“, които се субективни признаци и отразяват възприятието на пациента за собственото му състояние (110).

Harvey Bradshaw индекс

Състои се от 5 компонента (**Таблица 1**) и корелира добре с CDAI. (111). За клинична ремисия се приема HBI под четири или пет (112). Предлага се и използването на модифициран HBI, при който е ограничен ефектът на броя на дневните изхождания върху общата оценка (113).

Други индекси за оценка на болестната активност, корелиращи добре с CDAI са Cape Town index и Oxford index (110, 114), от друга страна т.нар. Холандски индекс (Dutch index), комбинация от клинични и лабораторни показатели, има слаба корелация с CDAI (110). Сравнено с HBI и Холандския

индекс, CDAI има най-големи вариации, като 40 % от тях се дължат на самооценката на пациента за общото му състояние (115).

10.1.2 Клинична активност при улцерозен колит

Индекс на Trulove и Witts

Най-често използваният клиничен индекс за оценка на болестната активност при УК е създаден от Trulove и Witts още през 1955 г. (116). Той дефинира лека, умерена и тежка активност. При леката форма са налице по-малко от четири изхождания дневно, с или без кръв, липса на системни прояви и нормално СУЕ. При умерената – броя на дефекациите е повече от четири на ден с минимални системни прояви. Тежката форма се характеризира с повече от шест изхождания дневно с наличие на кръв и системни прояви – температура, тахикардия, анемия и СУЕ над 3. Като клинична ремисия се определя наличието на 1 или 2 дефекации дневно без наличие на кръв и без системни прояви. Индексът на Trulove и Witts е лесен за приложение, но му липсва точност, особено в оценката на по-тежките случаи. Друг недостатък на индекса е, че не е ясно наличието на точно колко системни прояви е нужно. Индексът не е достатъчно описателен по отношение на промените в болестната активност (116).

Powell-Tuck Index

През 1978 г. Powell и Tuck описват индекс за оценка на активността на УК, по-късно кръстен Powell-Tuck Index, включващ 10 клинични показатели: общо състояние, абдоминална болка, честота на изхожданията, консистенция на изпражненията, кървене, анорексия, гадене или повръщане, абдоминална чувствителност, екстраинтестинални прояви и температура (117). Оценката на скората варира между 0 и 20 точки. Съществува и вариация на индекса, при

която е включена и сигмоидоскопска оценка (0-2 точки), увеличаваща максималната оценка до 22 точки. За ремисия се приема оценка от 0 точки, а за подобрене – намаляване на скората с поне 2 точки. Powell-Tuck индекса не е валидиран в клиничната практика.

Индекс на Rachmilewitz

Индексът на Rachmilewitz, познат още като индекс на клинична активност (clinical activity index, CAI), е използван в проучвания за 5-ASA (118). Като много други индекси и този съдържа важния, но силно субективен компонент „оценка на общото състояние на пациента от страна на клинициста“. По подобен начин ендоскопията зависи от субективната оценка на чревната лигавица. Индексът на Rachmilewitz съчетава обективни (СУЕ, температура и хемоглобин) и субективни параметри (ендоскопия, степен на коремната болка, количество кръв в изпражненията и общата оценка на лекаря). Освен това, включва броя на дефекациите за 1 седмица и екстраинтестиналните прояви, които парадоксално, нито са обективни, нито (в случая на екстраинтестиналните прояви) отразяват болестната активност. Оценката на индекса варира между 0 и 29 точки, като основната му слабост е това, че като клинична ремисия се дефинира всеки скор, по-нисък от този, използван за определяне на болестната активност. Така например, ако скорът е бил над 4, ремисия би означавало наличието на оценка от 4 точки, при която според индекса пациентът може да има 36-60 изхождания на седмица, което е далеч от представата за клинична ремисия. Очевидно е, че при индекса на Rachmilewitz е налице „сива зона“ в системата за точкуване за определяне на прага между активност и ремисия.

Индекс на Sutherland или UCDAI

Индексът на Sutherland, известен още като индекс за болестната активност на УК – UCDAI, е опростен скор, обединяващ четири компоненти: честота на изхожданията, ректално кървене, оценка на чревната лигавица и обща оценка на болестната активност според лекаря (119). Чрез използването на четири-точкова скала за всяка променлива, относителната простота на индекса намалява въздействието на лекарската и пациентската субективност в оценката на болестната активност.

Индексът се е използван в редица клинични проучвания. В две от тях ремисията е дефинирана като Sutherland индекс <1 със скор 0 за ректално кървене и честота на изхожданията и подобряване поне с 1 точка по отношение на ендоскопската компонента (120, 121). За подобрене се е смятало намаляването на скор с поне 3 точки, спрямо изходящия (120, 121). Въпреки, че индексът не е официално валидиран, скор $< 2,5$ точки корелира добре с дефинираната от пациента ремисия (122).

Mayo Score

Mayo Score е друг индекс, обединяващ клинични и ендоскопски показатели използван в редици клинични проучвания (62, 106). Mayo скорът се състои от четири компоненти: честота на дефекацията, ректално кървене, ендоскопска находка и обща оценка на лекаря, като оценката варира между 0 и 12 точки. Тоталният отговор (ремисията) се дефинира като нормална честота на изхожданията, липса на кървене, добро общо състояние на пациента и нормална ендоскопска находка (48, 62). Като частичен отговор се определя подобрене с поне 1 точка по отношение на общото състояние, подобрене в поне един от другите показатели, без влошаване на който и да е показател.

Нито Мауо скорът, нито дефинициите за отговор са официално валидирани (48, 62).

През годините различни проучвания промениха дефинициите за ремисия и отговор, свързани с Мауо скор. Различните проучвания докладват и различни определения. Съществуват такива, определящи ремисията като Мауо скор 0, а отговор - като намаляване на скор с поне 3 точки (48), други разделят отговора на две – ендоскопски, при намаляване на ендоскопския субскор с поне една точка и клиничен, при намаляване на останалите компоненти с поне 2 точки.

В две проучвания за ролята на инфликсимаб при активен УК, за ремисия е определен общ Мауо скор по-малък или равен на 2, без наличието на субскор над 1 точка. Като клиничен отговор се дефинира намаляването на общия скор с поне 3 точки или поне 30% спрямо изходния и намаляване на ректалното кървене с поне 1 точка (или субскор за кървене от 0 или 1 точка) (106). Като мукозно оздравяване е дефиниран ендоскопски субскор от 0 или 1 (106).

Индекс на Lichtiger

Индексът на Lichtiger, известен още като модифицираният индекс за активност на Truelove-Witts, е създаден през 1990г (123). Той е много лесен и бърз за употреба в клиничната практика, понеже включва единствено клинични променливи. Като ремисия се определя Lichtiger индекс под 3 (124), а като клиничен отговор – скор под 10 в два последователни дни (125). Индексът все още не е валидиран.

Съществуват и други индекси за оценка на болестната активност при УК, Seo Index, Simple Clinical Colitis Activity Index, Ulcerative Colitis Clinical Score и др. Нито един от тях не е широко валидиран.

10.2 Ендоскопска активност

Извършването на ендоскопско изследване с множество биопсии остава „златен стандарт“ за оценка на чревното възпаление. Ендоскопията играе съществена роля в диагнозата, прогнозата и проследяването на пациентите с IBD. В допълнение, ендоскопията е от съществено значение за определянето на болестната активност и разпространеност, избора на правилен терапевтичен подход, както и за осъществяване на терапевтични процедури като дилатация на стриктури при БК. Редица проучвания показват, че мукозното оздравяване е терапевтичната цел при пациентите с ВЧЗ (59, 126), като по настоящем основният метод за неговата оценка е именно ендоскопското изследване (60).

10.2.1 Ендоскопска активност при болест на Крон

Crohn's disease endoscopic index of severity (CDEIS)

С цел оценка на ендоскопската болестна активност при БК, през 1989 г, френската група GETAID създава Crohn's disease endoscopic index of severity (CDEIS) (127). Понастоящем това е златния стандарт за ендоскопска активност при пациенти с БК (47). За да може да се изчисли CDEIS, червото условно се разделя на 5 сегмента: ректум, сигма и ляв колон, трансверзум, десен колон и илеум. Във всеки сегмент се оценяват 9 лигавични изменения: псевдополипи, излекувани разязвявания, афти, повърхностни разязвявания, дълбоки разязвявания, нераязвена стеноза и разязвена стеноза. Процентът от съответната повърхност на засегнатия сегмент се съпоставя с 10-сантиметрова аналогова скала между 0 и 10, като 0 означава липса на изменения, а 10 – 100% засягане на повърхността на сегмента. CDEIS варира между 0 и 44 точки, като по-високият скор отразява по-висока ендоскопска активност. CDEIS корелира

слабо с клиничната активност (128). Определянето на индекса отнема време и за изчислението му е необходима трансформация в аналогова скала, поради това CDEIS е труден и неудобен за приложение в клиничната практика.

Simple endoscopic score for Crohn's disease (SES-CD)

За да се улесни ендоскопската оценка при болни с БК, Dargeno и сътр. през 2004г. създават простия ендоскопски скор за БК (129). Той е много по-лесен и по-бърз за изчисляване. Корелира много добре с CDEIS, и съществува формула, която позволява преизчисляване на SES-CD стойностите в CDEIS и обратно: $CDEIS = 0.76 \text{ SES-CD} + 0.29$. SES-CD включва четири променливи (наличие и големина на язвите, процент на разязвената повърхност, процент на засегнатата от болестта повърхност и наличие и тип на стенозите), оценени в същите 5 илеоколонни сегмента като при CDEIS. Важно е да се отбележи, че оценката на илеума изключва илеоцекалната клапа, която спада към десния колон. Скорът има стойности от 0 до 60. В проучването, валидиращо скората, се описва значителна корелация с CRP и CDAI (129).

През последните години са правени много опити да се дефинира точната граница между ендоскопска ремисия и минимално активната БК, според CDEIS и SES-CD. Съществуват проучвания, определящи стойности на CDEIS под 3 (130, 131) и на SES-CD под 5 (132) като ендоскопска ремисия. Въпреки това, най-добрата прогноза е свързана със стойности на CDEIS или SES-CD от 0 точки (131, 133). В публикуван неотдавна обзор се демонстрира липсата на приета дефиниция за ендоскопско оздравяване (134).

Rutgeerts' score

След резекция при пациенти с БК, ендоскопското изследване открива признаци на ендоскопска активност при 60-70% от пациентите в периода 6-12 месец след операцията, като тежестта на лезиите предсказва последващия

клиничен ход (135, 136). За оценка на болестната активност в илеума, през 1990 г. Rutgeerts и сътр. създават скор, валидиран като „златен стандарт“ за постоперативна ендоскопска оценка (110, 136).

Находките в илеума се степенуват в 5 категории: i_0 – липса на лезии в дисталния илеум, i_1 - ≤ 5 афти в дисталния илеум, i_2 говори за >5 афти с нормална лигавица помежду им или наличие на нормални зони сред по-големи лезии или лезии ограничени в илеоколонната анастомоза, i_3 – афтозен илеит с дифузно възпалена лигавица и i_4 – дифузно възпаление с големи язви, нодули или стеснения (136).

10.2.2 Ендоскопска активност при улцерозен колит

Съществуват редица индекси за измерване на ендоскопската активност при УК, но те не се използват ежедневно в клиничната практика (137). Ендоскопският индекс за оценка тежестта на УК (Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity - UCEIS) и Колоноскопският индекс за оценка тежестта на УК (Ulcerative Colitis Colonoscopic Index of Severity - UCCIS) са официално валидирани и са вписани в Ендоскопския консенсус на ECCO (137). Съществуват множество други ендоскопски системи за оценка на активността при УК, някои от които се използват много често от клиницистите, въпреки че не са официално приети.

Първият опит за класифициране на ендоскопската активност при УК е направен през 1955 г. от *Truelove u Witts* по време на плацебо-контролирано проучване за оценка на терапевтичния ефект на кортизона при пациенти с активен УК (116). Те разделят изгледа на дебелочревната лигавица на три: 1. Нормална или почти нормална (лека хиперемия и лека гранулираност); 2. Подобен ендоскопски образ; и 3. Липса на подобрене или влошаване на

образа. Очевидно е, че в тази класификация липсват добре дефинирани ендоскопски характеристики.

Десет години по-късно, *Baron и сътр.* описват изгледа на дебелочревната лигавица при 60 пациента с УК, използвайки ригиден сигмоидоскоп (102). Степента на болестната активност е била разделена на 4 точки (от 0 до 3), най-вече според тежестта на кървенето. Кървенето при леко докосване на лигавицата, описано като ранимост на лигавицата, е характеризирано като основен метод за отдиференциране на леката и умерено активната болест. Интересен е факта, че при този скор, наличието на язви не е взето под внимание за оценка на тежестта на мукозното възпаление. Baron скор ≤ 1 (0: нормално изглеждаща лигавица; 1: ненормално изглеждаща, но нехеморагична лигавица) е дефиниран като ендоскопска ремисия. Въпреки, че се използва вече над четири десетилетия, ендоскопската класификация на Baron все още не е официално валидирана.

Индексът на Powell-Tuck, известен още като индекса на Saint Mark, степенува тежестта на възпалението в 3-точкова скала (от 0 до 2), акцентирайки главно върху лигавичното кървене (не-хеморагична лигавица, кървяща при леко докосване и спонтанно кървяща) (117).

Rachmilewitz извършва серийни ендоскопски оценки по време на контролирано сравнение между ефекта на мезаламин и на сулфасалазин за лечение на активен УК и по този начин създава ендоскопския индекс на Rachmilewitz. Той описва четири променливи: гранулираност, съдов рисунок, ранимост на лигавицата и увреда на лигавицата (слуз, фибрин, ексудат, ерозия и язва) (118). Индексът варира между 0 и 12 точки. За ендоскопска ремисия се приема резултат от 0 до 4 точки.

Индексът на Sutherland или UC-DAI е разработен по време на плацебо-контролирано проучване, оценяващо ефективността на лечението с

мезаламинови клизми при пациенти с дистален УК (119). Видът на дебелочревната лигавица е описан с 4-степенна скала (от 0 до 3), оценявайки три ендоскопски находки: ранимост на лигавицата, ексудация и спонтанно кървене.

Ендоскопската компонента на Mayo скор е разработена през 1987 от Schroeder и сътр. по време на плацебо-контролирано проучване, оценяващо ефекта на орален мезаламин със забавено освобождаване при лечението на активен УК (106). Степента на ректалното възпаление е оценена в 4-степенна скала (от 0 до 3). Ендоскопският Mayo субскор (EMS) е най-често използваният в клиничните проучвания метод за оценка на терапевтичния ефект в условия на ендоскопска ремисия. Мукозното оздравяване се дефинира като EMS 0-1 (62). Въпреки това, някои проучвания дефинират по строго мукозното оздравяване – само EMS 0 (138).

През 2005 г. Feagan и сътр., по време на клинично изпитване на хуманизирано антитяло срещу $\alpha 4\beta 7$ интегрин, описват **модифицирания Baron скор** (139). При него ендоскопската активност се класифицира в 5-точкова скала (от 0 до 4) и включва следните характеристики: съдов рисунък, гранулираност, хиперемия, ранимост, язви, кървене. За ендоскопски отговор се приема подобрене поне с 2 точки спрямо предходния резултат. За ендоскопска ремисия се приема скор от 0 точки, отговарящ на нормална лигавица с видим съдов рисунък и липса на ранимост.

В опит да създадат и валидират надежден метод за оценка на ендоскопската активност при пациенти с УК, през 2012 г. Travis и сътр. описват **Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS)** (99). Този нов индекс степенува три ендоскопски находки: съдов рисунък, кървене и наличие на ерозии и/или язви, като всяка от тях е точно дефинирана и разделена на 3 до 4 подстепенни. Описанията, направени чрез UCEIS, обхващат 90% от вариацията в цялостната

оценка на ендоскопска активност. Интересен е фактът, че ранимостта е изключена като показател. Все още в процес на уточняване са точните нива на UCEIS, отговарящи на ремисия, лека, умерена и тежка активност. Имайки в предвид характеристиките на скората, някои автори посочват, че UCEIS от 0-1 отговаря на ремисия, а >6 – на тежък УК (140, 141). По-неясна е интерпретацията на стойностите между 2 и 5. Въпреки всичко, точните гранични стойности, тяхното приложение и интерпретация предстои да бъдат определени. Смята се, че UCEIS скор 0 най-вероятно ще бъде пожелателна цел, както на клиничните проучвания, така и на клиничната практика (141).

През 2013г. Samuel и сътр. описват още един индекс - *Ulcerative Colitis Colonscopic Index of Severity (UCCIS)* (142). Той включва шест характеристики: съдов рисунък, гранулираност, язви, кървене/ранимост, степенуване на сегментна и общата оценка за ендоскопска тежест по предварително определена 4-степенна скала и обща оценка на ендоскопската тежест, базирана на 10 cm скала. Индексът демонстрира значителна корелация с клиничната активност и с някои биомаркери (CRP), но все още липсва точно определена гранична стойност за ендоскопски отговор и ремисия.

11. Нови ендоскопски техники

Въпреки че, оценката на чревното възпаление посредством рутинна колоноскопия е надежден параметър на болестната активност, при пациенти с IBD в ремисия са докладвани различия между ендоскопския образ и хистопатологичната активност. Дори когато конвенционалната колоноскопия описва ремисия и нормално изглеждаща лигавица, могат да съществуват микроскопски възпалителни изменения (143, 144) и съответно рано или късно да настъпи релапс (145). Проучвания в тази насока към момента са правени основно при пациенти с УК.

Усъвършенстването на ендоскопската техника през последните години доведе до развитието на колоноскопия с висока резолюция на образа и видеоувеличение, позволяващи наблюдението на отворите на криптите на повърхността на колоректалната лигавица. Това от своя страна позволява по-доброто разбиране на морфологичната връзка между криптовия рисунок (подредбата на отворите на криптите), наблюдаван колоноскопски и самите крипти, наблюдавани под микроскоп (146-149).

Целта на тази технология е да създаде *in vivo* оптична биопсия, която може да бъде използвана по време на колоноскопското изследване за подсилване на диагностичната точност и за по-точна преценка на последващия терапевтичен подход. Също така, увеличителната ендоскопия би могла да е от полза в предсказването на обострянията при пациенти с УК.

12. Хистологична активност

Хистологичното изследване се използва рутинно за диагностициране на УК и БК. Наблюдавано е, че лигавичното възпаление изчезва след успешно проведена терапия при пациенти с УК (150), така че вземането на биопсии е от полза за отдиференциране на активна от неактивна болест, както и за определяне на степента на активност на УК. Поради тази причина са създадени редица хистологични скорове за оценка на болестната активност при УК, които се използват в редица клинични проучвания (151).

За разлика от УК, патолозите не оценяват толкова често болестната активност при пациентите с БК. Това се дължи най-вече на сегментния характер на болестта, допускането на грешки при вземането на пробите и факта, че илеума може да бъде единствената засегната зона. Микроскопският анализ на множество проби от различни сегменти на колона и илеума би могъл да предостави много полезна информация за оценка на болестната активност.

Стойността на хистологията в предсказването на релапс и оценката на адекватния контрол на възпалението се изразява във възможността за изграждане на правилен терапевтичен подход и намаляване риска от неоплазия. При болни с УК, епителната увреда, в комбинация с неутрофилна инфилтрация или базална плазмоцитоза се смята за маркер на болестна активност и за предиктор на релапс (152, 153).

Като цяло данните към момента за връзката между хистологията и активността при БК са ограничени, а също така експертите в областта все още не са достигнали до общоприето становище за употребата на микроскопското изследване за оценка на активността на БК (47).

13. Лабораторни маркери

Маркерите на възпаление в периферната кръв като левкоцити, СУЕ, CRP, тромбоцити и албумин се използват ежедневно в клиничната практика за оценка на болестната активност. Освен това още няколко острофазови протеини, много цитокини и серологични маркери се изследват в тази насока. Всички тези показатели, обаче, отразяват степента на възпаление в целия организъм. Те са нискочувствителни и несигурни за оценка на чревното възпаление и не отразяват добре болестната активност (154, 155). Затова тези тестове не могат да заменят клиничните и ендоскопски изследвания.

Един от най-точните и добри начини за локализиране на интестиналния възпалителен процес и оценка на неговата тежест е ¹¹¹индий левкоцитното сканиране и количеството на индий-свързаните левкоцити във фекалите (156). Въпреки това, излагането на радиация, четиридневното събиране на изпражнения и високата цена правят този метод неподходящ за амбулаторно изследване.

13.1 С-реактивен протеин (CRP)

С-реактивният протеин е пентамерен белтък, състоящ се от пет мономера. Това е един от най-важните острофазови протеини в човешкия организъм (154). Нормално CRP се произвежда от хепатоцитите в ниско количества (<1 mg/l). При наличие на възпаление, обаче, производството му се увеличава под влиянието на IL-6, TNF- α и IL-1 β , като може да достигне стойности от 350–400 mg/l. Полуживотът на CRP е кратък (19 часа) и поради тази причина, когато стимулът престане да действа, количеството му бързо намалява (157).

Въпреки че при повечето възпалителни заболявания, в това число и ВЧЗ, CRP е с повишени стойности, съществува значителна хетерогенност в CRP отговора между пациентите с УК и БК. Докато при БК CRP отговорът е значителен, при УК той е много слаб или липсва (158). Все още не съществува добро обяснение за тази хетерогенност. Освен това, поради генетичен полиморфизъм, около 30% от хората нямат експресия на CRP, което е и причина за липса на адекватен отговор.

Съществуват съобщения, че измежду всички лабораторни маркери CRP корелира най-добре с болестната активност при IBD и най-добре разграничава IBD от пациентите с други ГИ заболявания (154). Също така, повишеното CRP може да бъде и индикатор за усложнения при БК, напр. абцес. Ниското CRP при пациенти с активна БК се свързва с локализация на болестта в илеума (159).

13.2 Скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ)

Скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ) е кръвен тест, който измерва скоростта, с която се утаяват червените кръвни клетки в специална вертикална

тръбичка за един час. Изследването се влияе от съотношението на червените и бели кръвни клетки, плазмените белтъци и електролитния баланс.

СУЕ е неспецифичен маркер и се ускорява при редица състояния: анемия, възпалителни процеси, чернодробни увреждания, туморни процеси и много други (160). Описани си промени в СУЕ, свързани с възрастта и режима на хранене (161). В сравнение с CRP, СУЕ се повишава по-бавно, а също е необходимо и време за нормализирането му, дори и при подобряване състоянието на пациента (161). Едно от първите проучвания за СУЕ при ВЧЗ показва добра корелация с клиничната активност (162), която зависи от локализацията на заболяването. Корелацията на СУЕ с клиничната активност на УК и с БК, локализирана само в тънкото черво, е слаба (162, 163). Затова СУЕ е недостатъчен показател за определяне на активността при пациенти с ВЧЗ и за тяхното проследяване.

13.3 Цитокини

Наскоро проведени проучвания показват, че изследването на цитокини може да установи лек, но ескалиращ възпалителен процес на чревната лигавица при пациенти с ВЧЗ, преди да са налице клиничната симптоматика и ендоскопските изменения (164, 165).

TNF α се отделя главно от активирани макрофаги и моноцити. Въпреки че при активно IBD серумните нива на TNF α са често повишени, серумните концентрации не са увеличени постоянно и по тази причина имат ограничена стойност като сурогатен маркер за активност на ВЧЗ (157).

IL-6 е цитокин, продуциран от макрофагите и Т-клетките, който има както про-, така и противовъзпалителни свойства. При БК, IL-6 се отделя в повишени

количества в засегнатата лигавица, като стойностите корелират с ендоскопската активност (166).

Докладвана е връзка между лигавичната активност на IL-8 и степента на възпаление при УК, поради което се смята, че този цитокин би могъл да е полезен в предсказването на клиничния ход при пациенти с УК в ремисия (167).

В допълнение, докладвано е че и други цитокини са повишени при IBD - IL-1 β , IL-2, IL-2R, IFN- γ , IL-23, IL-27 и IL-15, но тяхната употреба като маркери на възпалителната активност изглежда ограничена, поради факта, че серумните им нива често остават в референтни граници, независимо от наличието на активно ВЧЗ (157).

Все пак понастоящем нито един от изброените цитокини не е широко достъпен в клиничната практика, а също така и нито един не е специфичен за чревното възпаление, което ограничава употребата им.

13.4 Серумни антитела

Анти-неутрофилните цитоплазмни антитела (ANCA) се откриват при пациенти с грануломатоза на Wegener, ревматоиден артрит, лупус (168), УК и БК (169), еозинофилен и колагенозен колит (170). При ВЧЗ се установяват перинуклеарни ANCA (pANCA) при 20-80% от пациентите с УК и при 2-28% от пациентите с БК (168, 169, 171). Въпреки това, понастоящем тези автоантитела не се свързват с патогенезата или клиничната активност/ремисията на ВЧЗ и не се изследват рутинно при диагностиката и проследяването на болните.

Антителата срещу *Saccharomyces cerevisiae*, или т.нар. ASCA, са насочени директно срещу фосфопептидоманана – част от манановите молекули, изграждащи клетъчната стена на *Saccharomyces cerevisiae*, който е еукариотен микроорганизъм, нормален обитател на чревния тракт, но се използва и в производството на бира (172). Понастоящем ролята на ASCA се свързва не толкова с патогенетични механизми при развитието на ВЧЗ, колкото с ролята им на диагностичен маркер при УК и БК с възможности за потвърждаване на диагнозата.

Макар и най-характерни за ВЧЗ, ASCA могат да се срещнат и при множество други заболявания на гастроинтестиналния тракт: интестинална туберкулоза (173), глутенова ентеропатия, първична билиарна цироза, автоимунен хепатит, така и извън него - миокарден инфаркт, анкилозираш спондилит, псориаатичен артрит, синдром на Reiter, синдром на Бехчет и други (170, 174-176), което ги прави твърде неспецифични за диагностика на ВЧЗ. Срещат се по-често при пациенти с БК (50 до 80%), по-рядко при УК (2 до 14 %), и в 1-5% от здравите контроли (177). Едновременното изследване на ASCA и рANCA може да подпомогне разграничаването на ВЧЗ от друг тип колит (178), но трудно би могло да разграничи БК от УК (179).

Други антитела, установени в серума на пациенти с ВЧЗ, са антитела срещу външно-мембранен порин (anti-OmpC), антитела срещу флагелин (anti-flagellin antibodies), антитела срещу ламинарибиозид карбохидрат (ALCA), антитела срещу цитобиозид карбохидрат (ACCA), антитела срещу синтетичен манозид (ΑΣΜΑ). Описаните антитела се срещат при около 50% от пациентите с БК (180) и се характеризират с ниска чувствителност, но с висока специфичност.

13.5 Други лабораторни маркери

Другите по-често използвани лабораторни маркери за определяне на възпалителната активност са левкоцити, тромбоцити и албумин. Белите кръвни телца се повишават като част от отговора към възпалителния процес. Левкоцитозата, обаче, не е специфична за ВЧЗ и е честа находка и при други възпалителни състояния и други заболявания. Освен това, броят на левкоцитите се влияе от някои медикаменти, използвани за лечение на IBD като глюкокортикостероиди (повишават левкоцитите) или азатиоприн и 6-меркаптопурин (водят до левкопения).

Броят на тромбоцитите също може да е повишен при ВЧЗ, той е по-скоро индикация, а не маркер за възпаление. Тромбоцитозата е неспецифична за възпалителния отговор, тя може да настъпи и при хеморагия. Корелира слабо с клиничната и ендоскопска активност (128).

Албуминът е типичен пример за негативен острофазов реактант, тъй като нивата му може да са намалени по време на инфекция. От друга страна, други състояния като малнутриция и малабсорбция също водят до ниски албуминови нива.

Други острофазови реактанти са сиаловата киселина, оромукоида, фибриногена, лактоферина, $\beta 2$ микроглобулина, серумния амилоид А, $\alpha 2$ глобулина и $\alpha 1$ антитрипсина. Повечето от тези маркери не са обстойно проучени при IBD, а проведените до момента изследвания показват противоречиви резултати (154). Освен това, ползата от приложението им при ВЧЗ е несъществена в сравнение с тази на CRP, главно поради по-дългият им полуживот. Така например, въпреки че оромусина показва добра корелация с

болестната активност, петдневния му полуживот прави приложението му в клиничната практика по-неефективно (154).

14. Фекални маркери

Множество различни фекални маркери са били изследвани за ролята им в диагностиката и мониторирането на активно ВЧЗ. Повечето проучвания до момента са осъществени с произхождащия от неутрофилите калпротектин (КП). Други биомаркери като лактоферин и S100A12 показват резултати сравними с КП, но все още не са достатъчно валидирани и точно характеризирани. Резултатите от другите фекални маркери трябва да се считат за предварителни

14.1 Лактоферин

Фекалният лактоферин е желязо-свързващ протеин, който произхожда главно от неутрофилите, но може да бъде секретирани и от редица мукозни епителни клетки. Лактоферинът е стабилен в изпражненията до 48 часа и може да бъде изследван чрез количествен ELISA тест. Подобно на ФКП, лактоферинът е неспецифичен. Освен при активно ВЧЗ, той може да е повишен при редица други заболявания като инфекциозна диария, КРК или след употребата на НСПВС. Лактоферинът показва добра корелация с клиничната, ендоскопската и хистологичната активност на IBD. Пациенти с активни УК и БК имат значително по-високи нива на лактоферин в сравнение с тези с неактивна болест (23, 181-184). Към момента единствените данни за употребата на фекален лактоферин в България са получени от Великова и сътр., които показват диагностична чувствителност на лактоферина (44,8%), значително по ниска от тази на ФКП (до 91,7% за БК и до 77,9 за УК) (5).

Gisbert и сътр. докладват, че лактоферинът има 46% чувствителност и 61% специфичност за предсказването на релапс при УК и 77% чувствителност и 68% специфичност при БК (185).

14.2 S100A12

S100A12 е специфичен неутрофилен протеин, който се повишава при активно ВЧЗ. Повишеното му отделяне корелира с активността на възпалението (186). Данни на Foell и сътр. внушават, че S100A12 би могъл да бъде по-точен маркер за чревно възпаление от ФКП (186). По-добрата диагностична способност на S100A12 се приписва на неговата специфична експресия от неутрофилите. Все още, обаче, данните за употребата на S100A12 са ограничени и резултатите не са напълно потвърдени (187).

14.3 Неоптерин

Неоптеринът, който е междинен метаболит на биоптерина, се отделя от активираните макрофаги. При клинично и ендоскопски активно ВЧЗ, фекалният неоптерин е сигнификантно по-висок, отколкото при неактивна болест (188). Концентрациите на неоптерина корелират добре с тежестта на лигавичните лезии. Подобно на ФКП и на лактоферина, повишеното отделяне на неоптерин е неспецифично и може да бъде активирано и от други заболявания. Постулира се, че отделянето на неоптерин като маркер на клетъчно-медиацията имунен отговор може да настъпи по-рано в инфламаторната каскада, отколкото това на КП. Все още няма точни данни в тази насока.

14.4 Полиморфонуклеарна еластаза

Полиморфонуклеарната еластаза (ПМНЕ) се отделя от активираните неутрофили. Стабилна е поне 4 дни на стайна температура. Пациентите с активно ВЧЗ имат сигнификатно по-високи концентрации на този биомаркер, отколкото тези с IBS или неактивно ВЧЗ (23). В проучване на Silberer и сътр. се демонстрира, че ПМНЕ и ФКП корелират с ендоскопската активност при IBD (181).

14.5 M2-пируват киназа

M2-пируват киназата (M2PK) е мултифункционален протеин, който е наличен в недиференцираните и пролифериращите тъкани. Няколко проучвания показват, че M2PK е повишена при активно ВЧЗ (189-191). В българската медицинска литература се съобщава чувствителност 75 % и специфичност 81 % на M2PK за диагностициране на ВЧЗ (191). Фекалната M2PK надеждно отдиференцира IBD от IBS и има сигнификантна корелация с ФКП (192).

14.6 Други фекални маркери

Редица други фекални маркери в това число фекален хемоглобин, металопротеинази, миелопероксидази, $\alpha 1$ антитрипсин, TNF α , лизозим, еозинофилен протеин X, човешки β -дефензин-2 са внушавани като потенциални маркери на чревното възпаление. Повечето от тях имат ниска диагностична точност или пък не са достатъчно проучени. Именно затова клиничната има роля остава все още неизвестна.

Понастоящем няма достатъчно данни в подкрепа на едновременното приложение на повече от един фекален тест. Счита се, че това би довело до по-високи разходи без да повиши диагностичната точност.

15. Калпротектин

15.1 Структура и функция на калпротектина

Калпротектинът (КП) е хетеродимер с тегло 24 кДа, състоящ се от два калций-свързващи протеина (S100A8 и S100A9), свързани нековалентно помежду си (193). Описан е за първи път през 1980 г. от Fagerhol (194). Белтъкът принадлежи към групата на S-100 протеините и има силни антимикробни свойства. КП представлява около 60% от цитозолните протеини на неутрофилите, наличен е и в моноцитите и макрофагите (196-198). КП е мултипотентна биологично-активна молекула. Концентрацията му в плазмата се увеличава при заболявания, свързани с повишена неутрофилна активност. Нивата на КП в плазмата и редица телесни течности корелира с активността на възпалителния процес (154, 198).

Концентрацията на КП в дебелото черво на здрави индивиди е няколко пъти по-висока, от тази в серума. КП е резистентен към бактериална деградация в колона. След свързването му с калций той не може да бъде разграден от левкоцитни и микробни ензими. Изследването на КП намира най-голямо приложение за неинвазивното доказване на чревното възпаление, вкл. и на тънкото черво, което не може да бъде изследвано със стандартно ендоскопско оборудване. Миграцията на гранулоцитите през възпалената чревна стена води до освобождаването на КП в чревния лумен. По този начин той може да бъде открит и във фекалиите, където поради резистентността на бактериалната деградация остава стабилен в продължение на 7 дни (199). Концентрацията на фекалния калпротектин (ФКП) е пропорционална на неутрофилната клетъчна

инфилтрация в лигавицата, поради което той е много чувствителен маркер за интестинално възпаление (195).

Тези факти засилиха интереса към ФКП, като маркер при редица възпалителни заболявания на червата, особено от средата на 90-те години, след като беше предложен ELISA тест за изследване на КП във фекалиите. За изследването е необходима еднократна фекална проба (5 грама). Пробите са стабилни до 7 дни при стайна температура, а при необходимост могат да се замразяват за дълъг период (200). Изследването се извършва чрез ELISA метод и е сравнително лесно и евтино. По тази причина в края на 90-те години бяха комерсиализирани тестове на редица фирми. Изследването стана общодостъпно, често използвано и още първите проучвания докладваха, че КП във фекалиите е сигнификантно повишен при редица чревни заболявания – ВЧЗ, инфекциозен ентероколит, дивертикулит, асоциирана с НСПВС ентероколопатия, колоректален карцином, полипи на червата, радиационен проктит (19, 198, 201, 202, 203).

Интересът към това изследване доведе и до производството на бързи количествени тестове, с които за около 30 минути може да се извърши определяне на нивото на ФКП, без необходимост от специализирана лаборатория. Количествените бързи тестове са базирани на абсорбционен имунохроматографски метод и са с висока точност, напълно съпоставима с тази на ELISA –метода (204). С тях изследването може да се извърши във всеки лекарски кабинет. През последните няколко години се усъвършенстваха и софтуерни системи, които позволяват на пациентите чрез мобилно приложение да изследват ФКП и да изпратят резултата на лекуващия ги лекар.

15.2 Фекален калпротектин при ВЧЗ

През 1992 г. Roseth и сътр. първи демонстрират, че нивата на ФКП са повишени при пациенти с УК и БК (199). Първите проучвания на ФКП са били фокусирани върху способността му да разграничава пациенти с IBD от такива със синдром на раздразненото черво (IBS). Множество изследвания потвърждават, че ФКП е полезен маркер за отдиференциране на пациентите от тези две групи с положителната предсказваща стойност между 70% и 100% и негативната предсказваща стойност – между 51% и 91% (183, 205-207).

През 2010 г. изследването на ФКП за първи път се въвежда в България от В. Наков и сътр., които доказват ползата от белтъка в диагностиката и оценката на чревното възпаление при пациенти с ВЧЗ и други интестинални заболявания (19). По-късно високата диагностична чувствителност и специфичност на ФКП като маркер за активно възпаление при болни с ВЧЗ е потвърдена и от други автори в страната (5, 208), включително и в педиатричната популация (209).

Като цяло на базата на редица проведени изследвани се доказва ползата на ФКП в диагностиката и мониторирането на пациентите с ВЧЗ. Данните от проучвания в последните години показват липсата на значими различия в нивата на ФКП между пациенти с активна БК и активен УК (201). В метаанализ на база-данните в Medline, Web of Science, Cochrane Library и EMBASE на проучвания от м. декември 2013 год. върху активността на БК и УК се заключава, че ФКП е надежден маркер за оценка активността на ВЧЗ (210).

Оценяването на активността при УК се постига лесно с колоноскопия и хистологично изследване. При БК това не винаги е възможно, поради различните локализации и неравномерното разпределение на лезиите. Тънкото черво не винаги може да се изследва ендоскопски. Налице е силно

положителна връзка между ФКП и фекалната екскреция на маркирани с индий неутрофили, което подкрепя хипотезата, че ФКП отразява миграцията на неутрофили през възпалената чревна лигавица (211).

Също така е изследвано дали селектирането на пациентите за колоноскопско изследване на базата на нивата на ФКП, вместо въз основа на клиничната симптоматика, ще намали броя на ендоскопиите без видима находка. В метаанализ на van Rhee и сътр. е установено, че предварителният скрининг с ФКП води до редуциране броя на ендоскопиите с 67% при възрастни и с 35% - при деца, но е отбелязано и закъсняване на диагностицирането на ВЧЗ при 6% при пациентите, поради фалшиво негативни тестове на ФКП (212). Така че, спестяването на изразходваните средства от ненужни ендоскопии може да бъде балансирано с финансовите загуби от закъснялата диагноза.

15.3 ФКП и мукозно оздравяване

Мукозното оздравяване (МО), а не просто подобряването на симптоматиката, е главна терапевтична цел в съвременното лечение на ВЧЗ (213). Както при УК, така и при БК, МО е свързано с продължителна клинична ремисия, по-ниска степен на хоспитализации и операции, както и по-ниска честота от развитие на колоректален карцином (141). Въпреки това, все още не съществува валидна дефиниция за МО.

За да се оцени МО са нужни или повтарящи се ендоскопски изследвания, или използването на сурогатни маркери. Честата оценка на болестната активност чрез колоноскопия е скъпа, трудно приложима и има негативен ефект върху качеството на живот на пациента. Като алтернатива на това, ФКП все повече се използва като сурогатен маркер за МО. Увеличава се броя на

натрупаните данни за приложението на ФКП в тази насока, но резултатите и изводите все още не са пълни.

15.4 ФКП и мониториране на терапията при ВЧЗ

Мониторирането на терапевтичния отговор при пациентите с ВЧЗ се основава на комбинацията от наличната симптоматика, индексите за клинична активност, неспецифичните серумни маркери и понякога ендоскопия.

Индексите на клинична активност като CDAI, HBI, Rachmilewitz Index, UCDAI и др., се калкулират в зависимост от различни показатели – комбинация от различни симптоми, находки при физикалното изследване и стойности на лабораторни показатели. Тези индекси имат значителни ограничения: крайният резултат зависи и от субективната оценка на пациента; описват по-скоро общото състояние на пациента, отколкото степента на МО; събирането на данните е трудоемко. Поради тези причини, индексите се използват основно в проучвания, а не в клиничната практика.

Изследването на фекалните маркери, като КП и лактоферин, все повече се използва за оценка на ефекта от лечението и мониторирането на клиничната активност и терапевтичния отговор. ФКП може да се използва за диференциране между клинично активно и неактивно ВЧЗ (23).

Неинвазивното мониториране на болестната активност изисква повтарящи се изследвания на ФКП. Логично е, че серийните изследвания са по-точни отколкото еднократния тест за предсказване на болестната активност и изхода от лечението. Съвременните бързи тестове за изследване на ФКП дават възможности за по-добро, по-удобно и по-навременно проследяване на терапията при пациенти с ВЧЗ.

15.5 Фекален калпротектин и риск от релапс

Повечето пациенти с успешно проведено лечение, довело до изчезване на симптоматиката, все още имат някаква степен на остатъчно мукозно възпаление. Персистиращото възпаление при липсата на ГИ симптоматика би могло да доведе до прогресивно чревно увреждане, усложнения и/или риск от релапс. В редица клинични проучвания са описани повишени стойности на ФКП, въпреки наличието на клинична ремисия (205, 214). Изглежда че ФКП може да улови лигавичното възпаление преди появата на клинична симптоматика и по този начин да идентифицира пациентите с риск за релапс. Това е изключително полезно за клиничната практика, понеже в ранните стадии на релапс, липсва симптоматика. Симптомите де факто отразяват наличието на прогресиращ възпалителен процес. Възможността надеждно да се идентифицират пациентите с потенциален риск от релапс може да доведе до навременна промяна на терапевтичния подход и предотвратяване на клиничния релапс.

15.6 Ограничения в използването на фекалния калпротектин

Въпреки че ФКП демонстрира отлични резултати за отдиференцирането на ВЧЗ от невъзпалителни чревни заболявания и е надежден маркер за предсказване на релапса и мониториране на терапията при пациенти с IBD, съществуват някои ограничения в използването му. Може би най-незначителното от тях е, че някои пациенти се притесняват да дават фекални проби. Наскоро проведено изследване демонстрира че комплайънса на пациентите в това отношение е 89,5%, като само 6/57 пациента отказват да си повторят фекалния тест (215). Друго ограничение е, че фекалните маркери не са специфични за ВЧЗ. Нивата на ФКП могат да се повишат при много

органични заболявания, като колоректален карцином, полипи, бактериален или вирусен гастроентероколит, дивертикулит, НСПВС-асоциирана ентеропатия, пострадиационен колит. Проучване върху 575 пациенти демонстрира, че ФКП е повишен и при органични заболявания на горния ГИТ (216).

Концентрациите на ФКП зависят и от различни физиологични фактори като възраст и наличие на други заболявания, също така може би съществуват дневни вариации в нивата на белтъка (217, 218). Разпределението на ФКП във фекалната проба е по-скоро хомогенно (199). В наскоро проведено проучване полученият коефициент на вариация внушава значителни различия в стойностите на ФКП при един и същ пациент, но е важно да се отбележи, че различията са съществени при пациентите с по-високи концентрации, което поставя под въпрос клиничното приложение на тази находка (219).

Едно от най-сериозните ограничения за употребата на ФКП е това, че не съществува точна гранична стойност (cut-off) между активна болест и клинична ремисия. Оптималният cut-off все още не е установен, той може да варира в зависимост от използвания метод на изследване, както и от клиничното състояние на пациента. Смята се, че по-висок cut-off е подходящ за пациенти с диагностицирано ВЧЗ, а по-нисък – за скрининг (220). Повечето проучвания използват cut off от 50 $\mu\text{g/g}$, поради препоръките на повечето производители на тестове. Tibble и сътр. съобщават, че cut-off от 30 $\mu\text{g/g}$ има най-добра чувствителност за разграничаване на IBS от IBD (221). Колкото по-нисък cut off, толкова по-малък е броя на фалшиво-позитивните пациенти, насочени към ненужни ендоскопски изследвания.

Липсата на точно определен cut-off се отнася не само за разграничаването на IBD от IBS, но и за предсказването на клинична ремисия, МО и оценката на

терапевтичния отговор. За предсказване на ендоскопска ремисия е предлаган голям спектър от гранични стойности (57–274 $\mu\text{g/g}$).

Необходими са бъдещи проучвания, за да се установи по-точен cut-off за определяне на ремисия и предсказване на релапс. Също така, поради факта, че все още не съществува официална дефиниция за МО, точните нива на ФКП, индициращи ендоскопски неактивно ВЧЗ са под въпрос.

Съществува значителен оверлап по отношение на нивата на ФКП между органичните заболявания и IBS. Все още остава неясно дали при стойности на ФКП между 50 и 150 $\mu\text{g/g}$ пациентът трябва да се насочи към колоноскопия. Смята се, че повечето такива пациенти, особено в амбулаторната практика, по-скоро нямат органично заболяване, но все пак се препоръчва повторно изследване на ФКП преди насочването към ендоскопия.

Друго ограничение в употребата на ФКП (както и на фекалния лактоферин) е, че може да има нормални концентрации при пациенти с клинично и ендоскопски активна БК, и по-точно със засягане на илеума (L1) (184). Освен това, ФКП не е от полза за диференциалната диагноза между БК и УК.

ФКП не може да се използва с точност за определяне на локализацията на ВЧЗ. Понастоящем данните за връзката между нивата на ФКП с точно определена локализация на болестта са недостатъчни и противоречиви. Sirronen и сътр. описват по-високи концентрации на ФКП при колонна БК сравнено с БК, локализирана в илеума (184). В противовес на това, други автори откриват сходни нива на ФКП при БК, независимо от локализацията (222). При УК, средните нива на белтъка са по-високи при панколит и левостранен колит в сравнение с проктит (223).

В заключение, много познания са натрупани за патогенезата на ВЧЗ, въпреки това тя остава не напълно изяснена. Безспорно интестиналното възпаление е основната находка при тези заболявания, като локализацията, разпространеността и тежестта му повлияват естествения ход на БК и УК. Затова от изключително значение е мониторирането на тежестта на интестиналното възпаление, за да се оцени ефикасността на провежданото лечение, да се изключат усложнения и да се предотврати настъпването на релапс при пациенти в ремисия. Редица клинични и ендоскопски индекси, както и фекални и серумни маркери са използвани за проследяване на пациентите с ВЧЗ, като най-обещаващ от тях е ФКП. Все още, обаче, не е ясен интервала, през който ФКП трябва да бъде изследван, не са дефинирани точните му гранични стойности, предсказващи настъпването на релапс и дали той е достатъчен като маркер за изграждане на стратегия за проследяване на пациентите с ВЧЗ.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

I. Цел

Да се изгради оптимална стратегия за проследяване на пациентите с възпалителни чревни заболявания (ВЧЗ).

II. Задачи

За изпълнението на тази цел си поставихме следните задачи :

1. Да определим факторите, влияещи върху честотата на релапсиране при пациентите с ВЧЗ.
2. Да се определи диагностичната стойност на ФКП, изследван с бърз количествен имунохроматографски тест, при ВЧЗ и получените резултати да се сравнят с описаните до момента в България и по света.
3. Да се определи ролята на ФКП за определяне на активност, ремисия и мукозно оздравяване при пациенти с ВЧЗ
4. Да се определят стойностите на ФКП при пациенти с БК в ремисия след десностранна хемиколектомия.
5. Да се съпоставят стойностите на ФКП с конвенционални лабораторни маркери за активност при пациенти с БК и УК – CRP, СУЕ, левкоцити, тромбоцити, фибриноген
6. Да се съпоставят стойностите на ФКП с клиничните и ендоскопски индекси на активност (CDAI, Lichtiger Clinical Activity Index, UCEIS, ендоскопски Mayo субскор).
7. Да се проучи ролята на ФКП върху мониторирането на терапевтичния отговор при проследените пациенти с ВЧЗ.

8. Да се определи ролята на ФКП при предсказването на релапс при пациенти с ВЧЗ в ремисия.
9. Да се проучи ролята на TFF3 при оценка на чревното възпаление и определяне на мукозното оздравяване и да се съпоставят нивата на TFF3 с ФКП при пациенти с ВЧЗ
10. Да проучим ролята на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и възможността ѝ да предсказва релапс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Пациенти

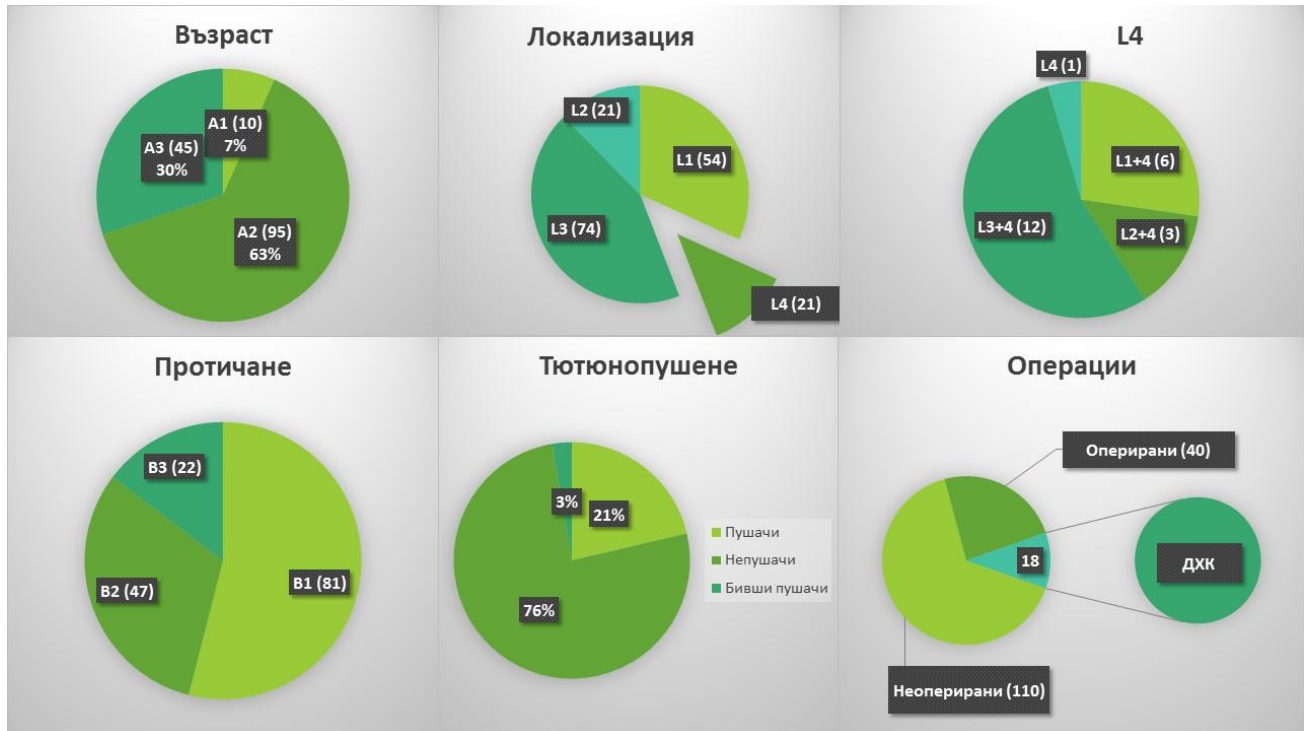
Проучването включва 346 пациенти (185 мъже и 161 жени) преминали през Клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ” за периода януари 2013 – септември 2016 година.

Група I – Болест на Крон (n=150), 76 мъже (50,7%), 74 жени (49,3%) на средна възраст 41.9 год. (19-81). Диагнозата е поставена на базата на стандартните клинични, ендоскопски и хистологични критерии (78). Клиничната активност е оценена чрез индекса на Best - Crohn's disease activity index (CDAI), като за ремисия се прие CDAI <150 (109). Ендоскопската активност е определена като наличие на лигавични изменения (ерозии, язви, афти) по време на илеоколоноскопията.

Локализацията и протичането са преценени чрез модифицираната класификация от Монреал 2005 г. (1). Десет от пациентите с БК (6,7%) са диагностицирани преди 16-тата си година (A1), 95 (63,3%) – между 16 и 40 годишна възраст (A2) и 45 (30%) са с поставена диагноза след 40-тата си година (A3). 54 (36%) пациенти са с локализация на болестта в илеума (L1), 21 (14%) – с колонна локализация (L2) и 74 (49,3%) – с илео-колонна локализация (L3) (**Фигура 4**). Двадесет и един (14%) от пациентите с БК имат и засягане на горния ГИТ, добавено към някоя от другите локализации, от тях 6 са с L1+L4 (28,6% от тези с L4), 3 (14,3%) са с L2+L4, 12 (57,1%) с L3+L4, а при един пациент (0,7% от всички пациенти с БК) е прието изолирано засягане на горния ГИТ – L4 (**Фигура 4**).

По отношение на протичането на болестта, 81 пациенти (54%) са с възпалителен фенотип (B1), 47 (31,3%) – със стриктуриращ (B2) и 22 (14,3%) – с пенетриращ фенотип (B3) (**Фигура 4**). Двадесет от болните (13,3%) имат

перианална болест, като при 19 от тях (95%), перианалното засягане е налично при колонна или илеоколонна локализация, а при само един от тях при локализация в илеума .



Фигура 4. Демографско разпределение на пациентите с болест на Крон (БК) по възраст, локализация на заболяването, засягане на горния ГИТ (L4), протичане, тютюнопушене и извършени операции. ДХК – десностранна хемиколектомия.

Екстраинтестинални прояви открихме при 39 (26%) от пациентите с БК. При 40 (26,7%) от пациентите е извършена оперативна интервенция, от тях при 18 (12% от всички с БК или 45% от оперираните) е осъществена десностранна хемиколектомия (ДХК). От всички пациенти с БК, 114 (76%) са непушачи, 32 (21,3%) са пушачи и 4 (2,7%) са бивши пушачи (**Фигура 4**). Средната продължителност на болестта е 6,9 години (0,25-40).

От всички 150 пациенти с БК, с новооткрито заболяване са 60 (40%), от тях при 17 (11,3%) болестта е открита в крайния период на това проучване, поради което не са проследявани. Следователно, 133 от пациентите с БК са проследени проспективно и ретроспективно за поява на релапс на болестта. Проследените пациенти са разделени на често и рядко релапсиращи по следния критерий: често релапсиращи – релапсирани до края на първата година от проследяването, т.е. с поне един релапс годишно и рядко релапсиращи – с по-малко от един релапс на година. Определено е влиянието на факторите продължителност на болестта, възраст, тютюнопушене и пол върху честотата на релапсиране при пациентите с БК.

Използвахме група от 76 последователни пациенти с БК (41 в клинична и ендоскопска ремисия – мукозно оздравяване, 35 с активна БК) и 18 здрави контроли, за да определим диагностичната стойност на ФКП при БК, изследван с бърз количествен имунохроматографски тест (Quantum Blue). Сравнихме получените резултати с описаните до момента в България и по света. За клинична ремисия приехме CDAI<150, а за ендоскопска - липса на лигавични изменения (ерозии, язви, афти) по време на илеоколоноскопията. От пациентите с активност, 18 бяха с локализация в илеума, а 17 с колонна или илео-колонна локализация. Сравнихме стойностите на ФКП между здравите контроли, пациентите с БК в ремисия, пациентите с БК в активност с локализация в илеума, пациентите с БК в активност с колонна или илео-колонна локализация и всички пациентите с активна БК. Определихме дали стойностите на ФКП се различават в зависимост от локализацията на болестта и какви са граничните стойности на ФКП за отдиференциране на пациентите с БК в ремисия от тези в активност и на пациентите в ремисия от тези с

локализация в илеума (L1). Използвахме същата група пациенти (n=76), за да сравним стойностите на ФКП с CDAI и ендоскопската активност при БК.

Освен това, сравнихме стойностите на ФКП на здравите контроли (n=18), пациентите с БК в ремисия (n=41) и пациентите с БК в ендоскопска ремисия след дясна хемиколектомия (n=18). За ендоскопска ремисия при пациентите след ДХК приехме стойност на Rutgeerts равна на i0.

В група от 37 пациенти с БК съпоставихме стойностите на ФКП с конвенционални лабораторни маркери за активност – CRP, СУЕ, левкоцити, тромбоцити и фибриноген.

При 15 пациента с БК в активност проследихме стойностите на ФКП преди включване на конвенционална терапия, на 8-ма седмица от започване на лечението и на 16-та седмица след началото на терапията, когато беше установена клинична и ендоскопска ремисия. В тази група включихме само пациенти, отговорили на конвенционална терапия, за да сравним стойностите на ФКП преди започване на лечение с тези при достигане на ремисия.

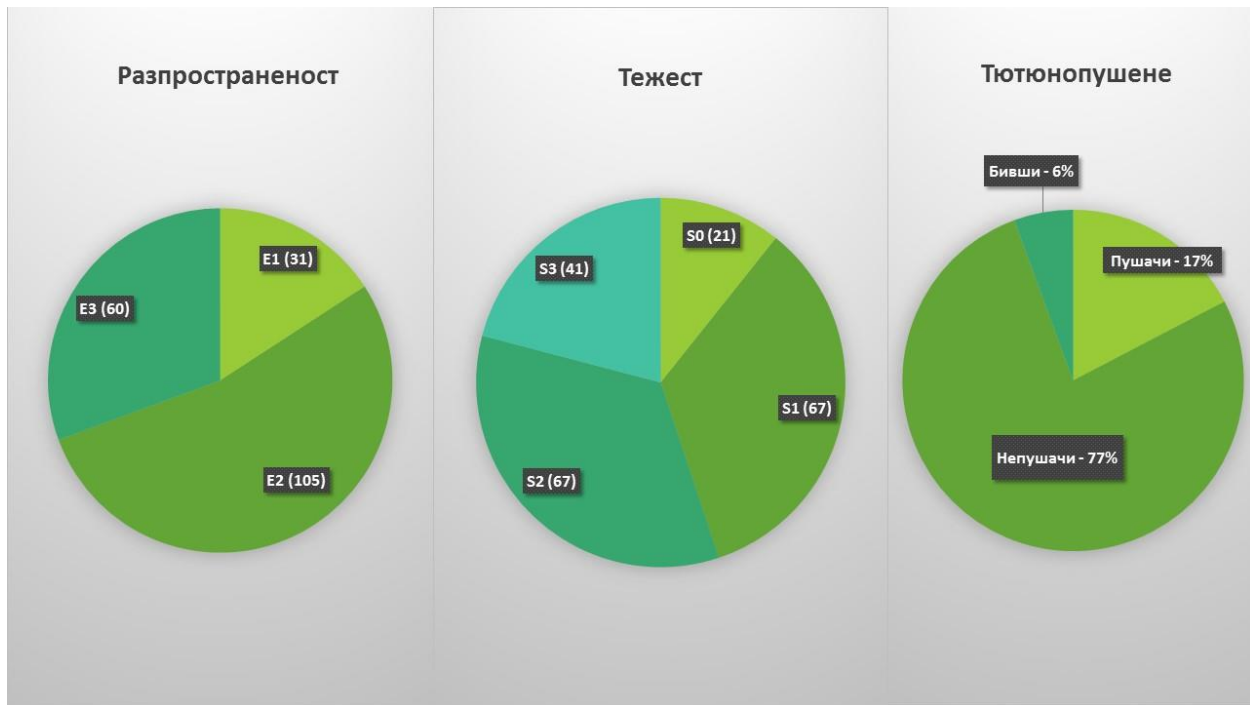
От всичките 41 пациента в клинична и ендоскопска ремисия, 20 декларираха възможност за често явяване на контролни прегледи – най-вече пациенти, живеещи в София и региона. Тези пациенти, на конвенционална поддържаща терапия, бяха контролирани клинично и предоставяха проби за изследване на ФКП на всеки два месеца до обективизиране на клиничен и ендоскопски релапс на заболяването или до края на проучването (24-ти месец). Останалите 21 пациенти имат само по едно изследване на ФКП - при установяване на ремисията. По този начин определихме ролята на ФКП при предсказването на релапс при пациенти с БК в ремисия.

Също така, изследвахме серумните нива на TFF3 и сравнихме стойностите му между следните групи пациенти: здрави контроли (n=16), пациенти с БК в

ремисия (n=16), пациенти с УК в ремисия (n=16), пациенти с БК в активност (n=16) и пациенти с УК в активност (n=16). След това съпоставихме стойностите на TFF3 с тези на ФКП.

Група II – Улцерозен колит (n=196), 109 мъже (55,6%), 87 жени (44,4%) на средна възраст 46 години (18-84). Диагнозата е поставени на базата на стандартните клинични, ендоскопски и хистологични критерии (78). Клиничната активност е оценена чрез Lichtiger Clinical Activity Index, а ендоскопската активност чрез EMS и UCEIS.

Разпространеността и тежестта на заболяването са преценени чрез модифицираната класификация от Монреал от 2005 г. (1). С улцерозен проктит (E1) са 31 (15,8%) от пациентите, с левостранен колит (E2) - 105 (53,6%) и с разпространен или панколит (E3) - 60 (30,6%) пациенти. По отношение на тежестта – 21 (10,7%) пациенти са в ремисия (S0), 67 (34,2%) пациенти са с лека тежест (S1), 67 (34,2%) – с умерена (S2) и 41 (20,9%) с изразена тежест на болестта (**Фигура 5**).



Фигура 5. Демографско разпределение на пациентите с улцерозен колит (УК) по разпространеност на заболяването, тежест и тютюнопушене.

Екстраинтестинални прояви открихме при 65 (33,2%) от пациентите с УК. От всички пациенти с УК, 151 (77%) са непушачи, 34 (17,4%) са пушачи и 11 (5,4%) са бивши пушачи (**Фигура 5**). Средната продължителност на болестта е 7,9 години (0,25-45).

От всички 196 пациенти с УК, с новооткрито заболяване са 86 (43,9%), от тях при 40 (20,4%) болестта е открита в крайния период на това проучване, поради което не са проследявани. Следователно, 156 от пациентите с УК са проследени проспективно и ретроспективно за поява на релапс на болестта. Подобно на групата с БК, проследените пациенти с УК бяха разделени на често и рядко релапсиращи по следния критерий: често релапсиращи – релапсирани до края на първата година от проследяването, т.е. с поне един релапс годишно

и рядко релапсиращи – с по-малко от един релапс на година. Определихме влиянието на факторите продължителност на болестта, възраст, тютюнопушене и пол върху честотата на релапсиране.

В група от 45 последователни пациенти с УК (20 в клинична и ендоскопска ремисия – мукозно оздравяване, 25 с активен УК) и 18 здрави контроли определихме диагностичната стойност на ФКП при УК, изследван с бърз количествен имунохроматографски тест (Quantum Blue). Сравнихме получените резултати с описаните до момента в България и по света. За клинична ремисия приехме стойности на Лихтигер индекс от 3 и по-малко точки, а за ендоскопска ремисия - UCEIS от 0 или 1 точка, но само ако тази точка се образува от дескриптора за съдов рисунок. Сравнихме стойностите на ФКП при здрави контроли, пациенти с УК в ремисия и пациенти с УК в активност. Използвахме същата група пациенти (n=45), за да сравним стойностите на ФКП с тези на конвенционални лабораторни маркери за активност при УК – CRP, СУЕ, левкоцити, тромбоцити и фибриноген.

Използвахме група от 58 пациенти с УК - 28 в активност и 30 в ремисия (вече известна или достигната по време на проучването ни), за да оценим как стойностите на ФКП корелират с клиничната активност, оценена чрез клиничния индекс на Лихтигер и с ендоскопската активност, оценена чрез UCEIS и EMS. Също така сравнихме EMS с UCEIS, UCEIS с Lichtiger и EMS с Lichtiger.

При 18 последователни пациенти с УК в клинична и ендоскопска ремисия (мукозно оздравяване) изследвахме ФКП, проведохме увеличителна хромоендоскопия (УХЕ) с висока резолюция и оценихме хистологичната активност по класификациите на Матс, Райли и по още два показателя – наличие на базална плазмоцитоза и еозинофилна инфилтрация в ламина

проприя. Сравнихме стойностите на ФКП с резултатите от УХЕ и хистологичните показатели. Проследихме клинично пациентите за релапс на заболяването.

При група от 14 болни с активен УК е извършено изследване на ФКП преди и в хода на конвенционално лечение (2-ра, 4-та, 8-ма и 12-та седмица) до достигане на клинична и ендоскопска ремисия.

Подбрахме група от 20 пациенти в клинична и ендоскопска ремисия, на конвенционална поддържаща терапия, които проследихме клинично и чрез изследване на ФКП на всеки два месеца до поява на клиничен и ендоскопски релапс на заболяването или до края на проучването (24-ти месец). В група включихме предимно пациенти, живеещи в София и околността, които декларираха възможност за често явяване на контролни прегледи. По този начин определихме ролята на ФКП при предсказването на релапс и при пациентите с УК в ремисия.

Освен това, изследвахме серумен TFF3 и извършихме сравнение на стойностите му между следните групи пациенти: здрави контроли (n=16), пациенти с УК в ремисия (n=16), пациенти с БК в ремисия (n=16), пациенти с УК в активност (n=16) и пациенти с БК в активност (n=16). След това съпоставихме стойностите на TFF3 с тези на ФКП при пациентите с УК.

2. Контролна група

Като контроли са включени 18 здрави доброволци, 9 мъже и 9 жени, на средна възраст 42 (20-62) години без анамнеза за заболявания на ГИТ и без никакви оплаквания в момента на даване на материал за изследване на ФКП. При 16 от тях е взет и серум за изследване на TFF3.

3. Методи

3.1 Включващи и изключващи критерии

Включващите критерии за настоящото проучване бяха: (1) възраст между 18 и 85 години, (2) тотална колоноскопия с интубация на цекума и интубация на терминалния илеум, (3) биопсии (поне шест биопсии от дебело и/или тънко черво), (4) попълнено информирано съгласие, (5) предоставяне на фекални проби в рамките на 1-2 дни преди извършването на колоноскопия, при групите пациенти изследвани за ФКП, (6) взимане на серум за изследване на TFF3 при съответната група пациенти

Изключващите критерии за това проучване бяха: (1) невъзможност за извършване на тотална колоноскопия, (2) неадекватна фекална проба, (3) наличие на колоректален карцином или полипи, (4) неклассифицируем колит, (5) инконтиненция на урина (поради риск от контаминация на фекалните проби), (6) бременност, (7) прием на НСПВС, (8) инфекциозен колит, (9) първичен имунен дефицит, и (10) наличие на тежки съпътстващи хронични физически или психически заболявания.

3.2 Анамнеза и статус на пациентите и контролите

Подробни анамнеза и статус са снети на всички пациенти и здрави контроли, част от това проучване.

3.3 Определяне на клиничната активност

В настоящото изследване използвахме най-често употребявания в клиничните проучвания индекс за оценка на болестната активност при БК - CDAI, който се състои от осем клинични параметри (**Таблица 2**). Стойностите на CDAI варират между 0 и 650. CDAI <150 е показател за клинично неактивна БК, а стойности над 450 съответстват на тежка активност. Стойности на CDAI

между 150 и 219 се дефинират като лека активност, а между 220 и 450 като умерена активност на заболяването (110).

Таблица 2. Индекс на Best - Crohn's disease activity index (CDAI)

Показател	Фактор на значимост (x)	Точки =
Брой течни или кашави изхождания –като сума за 1 седмица	x2	
Болки в корема –като сума за 1 седмица (липсват=0, леки=1, умерени=2, силни=3)	x5	
Общо състояние –като сума за 1 седмица (добро=0, леко увредено = 1, лошо = 2, много лошо =3, изключително лошо = 4)	x7	
Усложнения (брой) артрит, ирит, увеит, афтозен стоматит, гангренозна пиодерма, нодозен еритем, фисури, чревни фистули, анални периректални абсцеси, $t > 38^{\circ} \text{C}$ през седмицата	Брой x20	
Симптоматично противодиарийни лекарства (да. 1)	x30	
Резистентност/формация в корема (липсва=0, вероятна=2, сигурна=5)	x10	
Хематокрит (жени=42 - измерената стойност на хематокрита, мъже =47 - измерената стойност на хематокрита)	x6	
Тегло 1-настоящо тегло/стандартно тегло	x100	
Общо		

За определяне на клиничната активност при пациентите с УК използвахме клиничният индекс за активност на Лихтигер (Lichtiger Clinical Activity Index). Осем параметъра определят индекса на Lichtiger: диария (брой дефекации дневно), нощни дефекации, процент от изхожданията с примеси на кръв, фекална инконтиненция, абдоминална болка, общо състояние, абдоминална чувствителност при палпация и нужда от прием на антидиарийни средства (**Таблица 3**). Скорът варира между 0 и 21 точки. Клиничната ремисия се дефинира като Lichtiger Index от 3 и по-малко точки. Подобно на проучване на Schoerfer и сътр. (224) определихме различните степени на клинична активност на УК като: ремисия - 0-3 точки, лека активност - 4-8 точки, умерена активност - 9-14 точки и тежка активност - над 15 точки.

Таблица 3. Клиничен индекс за активност на Лихтигер

Показател	Точки					
	0	1	2	3	4	5
Диария (брой дефекации дневно)	0-2	3-4	5-6	7-9	≥10	
Нощни дефекации	Не	Да				
Кръв в изпражненията (% от изхожданията)	0	<50	≥50	100		
Фекална инконтиненция	Не	Да				
Абдоминална болка	Няма	Лека	Умерена	Тежка		
Общо състояние	Отлично	Мн. добре	Добре	Средно	Зле	Ужасно
Абдоминална чувствителност при палпация	Няма	Лека, локализирана	Лека до умерена, дифузна	Тежка		
Нужда от прием на антидиарийни средства	Не	Да				

3.4 Лабораторни изследвания

Стандартни лабораторни изследвания (хематологични, биохимични, имунологични, вирусологични и микробиологични) са извършени при всички пациенти и здрави контроли в това проучване. Пробите са изследвани в Клиничната лаборатория и Лабораторията по микробиология и вирусология към УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД.

3.5 Абдоминална ехография и допълнителни образни методи

При всички пациенти в проучването е извършена абдоминална ехография, а при нужда и допълнителни образни изследвания (КАТ, ЯМР, контраст-усилена ехография). При пациентите с ВЧЗ в ремисия липсваха данни за сонографска активност като измерената дебелина на чревната стена беше под 3мм.

3.6 Изследване на фекален калпротектин

При съответните групи пациенти и здравите контроли е изследван КП във фекални проби чрез бърз количествен тест, като е използван point-of-care desktop Quantum Blue Reader® (POC Reader) метод (**Фигура 6**). Това е имунохроматографски метод базиран на ELISA. Всички тестове са извършени от дисертанта в Клиничния център по гастроентерология към УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД, МУ-София.

Тестът се прилага с Квантум Блу отчитащо устройство (рийдър), предназначено за работа „при леглото на болния“. Тест - наборът съдържа всички необходими материали за екстракция (Calex Cap Device), валидизиране и контрол на определянията. Изследваните лица доставят фекална проба от 1 до 5 грама в подходящ за целта пластмасов контейнер. Пробите са изследвани в деня на доставяне на материала. Екстракцията се извършва със специалното устройство Calex, което позволява едновременно събиране на проба от изпражнението, хомогенизирането и разреждането ѝ без да се влиза в пряк

контакт с материала. Цялата процедура по екстракция е изпълнена стриктно според инструкциите на производителя, което ни позволи да разредем фекалната проба 1:500. От получената разредка се отпипетират 60 микролитра и се накапват в специално гнездо на тест-плочката. Отчитането е автоматично и се изписва на дисплея след 12 минути. Крайният резултат се представя в микрограма на грам фецес ($\mu\text{g/g}$).

Всички тестове са проведени съгласно инструкциите на производителя (Quantum Blue® Calprotectin, Bühlmann Laboratories AG, Switzerland) (204). Quantum Blue® измерва стойности на ФКП в диапазона 30-300 $\mu\text{g/g}$. При получаване на стойности $>300 \mu\text{g/g}$, се извършваше допълнително разреждане 1:10 с екстракционен буфер, според инструкциите на производителя, което позволи получаване на стойности на ФКП до 3000 $\mu\text{g/g}$. Стойностите на ФКП над горната граница бяха регистрирани като 3000 $\mu\text{g/g}$, а стойностите под долната граница – като 30 $\mu\text{g/g}$.

Фигура 6. Система Quantum Blue Calprotectin, (Bühlmann Laboratories AG, Switzerland) за определяне на фекален калпротектин. Представени са последователно тест-лента, апарата и поставянето на тест лентата в апарата за количествено определяне на фекален калпротектин.



3.7 Изследване на серумен TFF3

При 32 пациенти с БК, 32 с УК и при 16 здрави контроли са изследвани серумни нива на TFF3 чрез ELISA (Quantikine ELISA, Human TFF3 Immunoassay, R&D Systems, Inc., USA), при стриктно спазване инструкциите на производителя. Всички тестове са извършени в Лабораторията по клинична имунология към УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД. Резултатите са представени в нанограма на милилитър (ng/ml). Методът представлява количествен „сандвич“ имуноензимен метод (ELISA) за *in vitro* определяне на човешки TFF3 в биологични материали. Гнездата на микротитърната плака са натоварени с високоспецифични антитела срещу човешки TFF3. По време на първия инкубационен период се извършва свързване на TFF3, ако присъства в биологичния материал, към фиксираните върху гнездата на плаката антитела. След измиване на всички несвързани субстанции, се добавя второ поликлонално антитяло, насочено срещу TFF3 и конюгирано с ензим. След инкубацията излишъкът от несвързани субстанции се измива. Ензимната реакция се осъществява посредством добавяне на субстрат и образуване на цветен продукт. Ензимната реакция се стопира, след което се извършва спектрофотометрично отчитане. Интензитетът на цветния продукт е правопропорционален на първоначалното количество TFF3 в биологичната проба.

3.8 Видеогастроскопия с вземане на материал за хистологично изследване

При всички пациенти с БК и при тези с УК, за които е преценено, че е необходимо, е извършена видеогастродуоденоскопия с вземане на материал за хистологично изследване. Ендоскопските изследвания са извършени в Клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД.

3.9 Видеоколоноскопия – при всички пациенти, а при пациентите с БК и илеоскопия с вземане на биопсия. Определяне на ендоскопската активност по съответните индекси

24 часа преди колоноскопията при пациентите се осъществи почистване на дебелото черво с макрогол 4000 (Fortrans, Beaufour Ipsen International, Paris, France). Ендоскопските изследвания са извършени в Клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД.

Поради сложността в използването на повечето ендоскопски индекси за оценка на активността при БК, в настоящото проучване тя бе определена като наличие на лигавични изменения (ерозии, язви, афти) по време на илеоколоноскопията. В групата от пациенти след десностранна хемиколектомия беше използван Rutgeerts' score - за ремисия се прие i0 – липса на лезии в дисталния илеум.

За определяне на ендоскопската активност при пациентите с УК използвахме два сора – EMS и UCEIS. EMS е най-често използван в клиничната практика. При него ректалното възпаление е оценено в 4-степенна скала (от 0 до 3), според наличието на следните ендоскопски характеристики: 0 – нормален изглед; 1 – еритема, намален съдов рисунък, лека ранимост; 2 – значителен еритем, липса на съдов рисунък, ранимост, ерозии и 3 – язви, спонтанно кървене.

UCEIS е скор, базиращ се на визуална аналогова скала, предоставящ валидиран от Европейската организация за Крон и колит (ЕССО) модел за оценка на ендоскопската активност при УК. Този нов индекс степенува три ендоскопски находки: съдов рисунък, кървене и наличие на ерозии и/или язви, като всяка от тях е точно дефинирана и разделена на 3 до 4 подстепенни

(Таблица 4). Ние оценихме пациентите посредством тотална колоноскопия, въпреки че в оригиналното описание на UCEIS скората Travis и сътр. използват сигмоидоскопия (99). Идентифицирахме най-тежко засегнатата част на дебелото черво и изчислихме крайната оценка чрез просто добавяне на оценките от всеки компонент в интервала от 0 (нормален образ) до 8 (най-тежко засягане). Стратифицирахме UCEIS скората в четири групи: ремисия (UCEIS 0-1); лека активност (UCEIS 2-4); умерена (UCEIS 5-6); и тежка активност (UCEIS 7-8). Приехме, че UCEIS 1 означава ремисия, само ако точката се образува от дескриптора за съдов рисунок.

**Таблица 4. Ulcerative colitis endoscopic index of severity (UCEIS) -
ендоскопски индекс за тежест на улцерозен колит.**

Показател (описват се най-тежките лезии)	Точки по Linkert scale	Определение
Съдов рисунок	Нормален (0)	Нормален съдов рисунок с ясно виждащо се дървовидно разклонение на капиллярите или със замъгляване на капилярните окончания
	Неравномерно заличен (1)	Неравномерно заличен съдов рисунок
	Заличен (2)	Тотално заличен съдов рисунок
Кървене	Липсва (0)	Няма видима кръв
	Лигавично (1)	Наличие на отделни петна или жилки от коагулирана кръв на повърхността на мукозата пред ендоскопа, които могат да бъдат измити
	Луменно, леко (2)	Наличие на свободна течна кръв в лумена
	Луменно, умерено или тежко (3)	Отявлено наличие на кръв в лумена, пред ендоскопа или видимо сълзене от мукозата след измиване на интралуменната кръв или видимо сълзене от хеморагична лигавица
Ерозии и язви	Липсват (0)	Нормална лигавица, без видими ерозии или язви
	Ерозии (1)	Малки (≤ 5 mm) дефекти на лигавицата, с бял или жълтеникав цвят и с плоски ръбове
	Повърхностни язви (2)	По-големи (> 5 mm) дефекти на лигавицата, които са дискретни, повърхностни, покрити с фибрин язви (а не ерозии)
	Дълбоки язви (3)	Дълбоки, екскавационни дефекти на лигавицата с леко повдигнати ръбове

3.10 Увеличителна хромоендоскопия с висока резолюция

В група от 18 пациенти с УК в клинична и ендоскопска ремисия, в Клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД, беше осъществена увеличителна хромоендоскопия с висока резолюция (Olympus H180; Olympus Europe, Hamburg, Germany), след провеждането на тотална конвенционална колоноскопия. 24 часа преди колоноскопията при всички пациенти и контроли дебелото черво беше почистено с макрогол 4000 (Fortrans, Beaufour Ipsen International, Paris, France). Лигавицата е оценена в зоните на ректум и сигма. Дебелочревната мукоза е оцветена с 0,05% кристал виолет след премахване на мукуса в съответните зони с вода и N-ацетилцистеин. След това, криптовият рисунък на лигавицата е оценен посредством УХЕ с висока резолюция според класификацията на Nishio и сътр. (225). Последната се състои от 4 степени, базиращи се на размера, формата и подредеността на отворите на криптите:

Степен А: малки отвори, с правилна кръгла форма и правилно подреждане (**Фигура 7**);

Степен В: отворите са с по-големи размери, с овална форма и по-неправилно подреждане (**Фигура 8**);

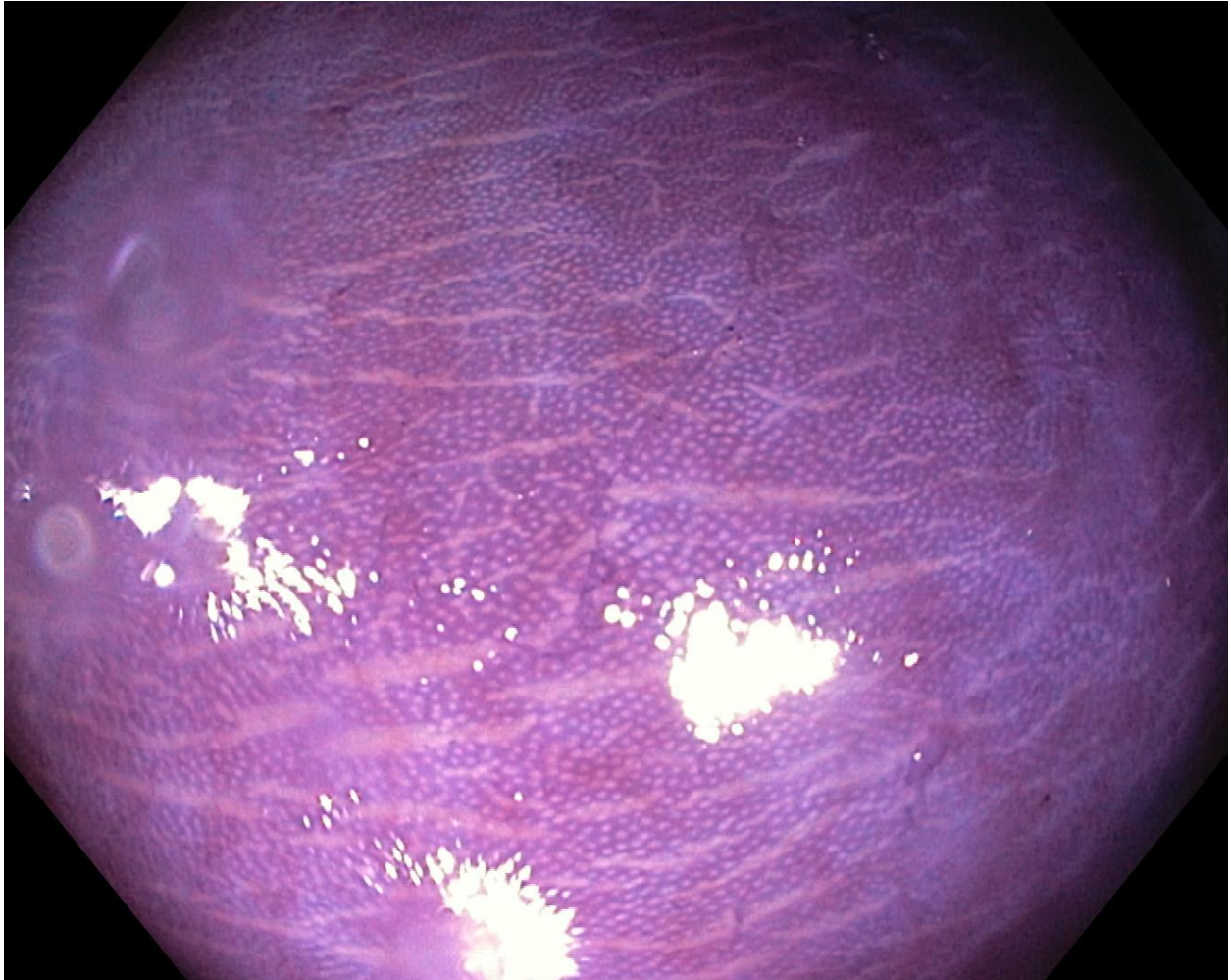
Степен С: отворите са с разнообразна форма и големина и са неправилно подредени (**Фигура 9**);

Степен D: разпръснати отвори с различна морфология, свързани с наличието на малки ерозии.

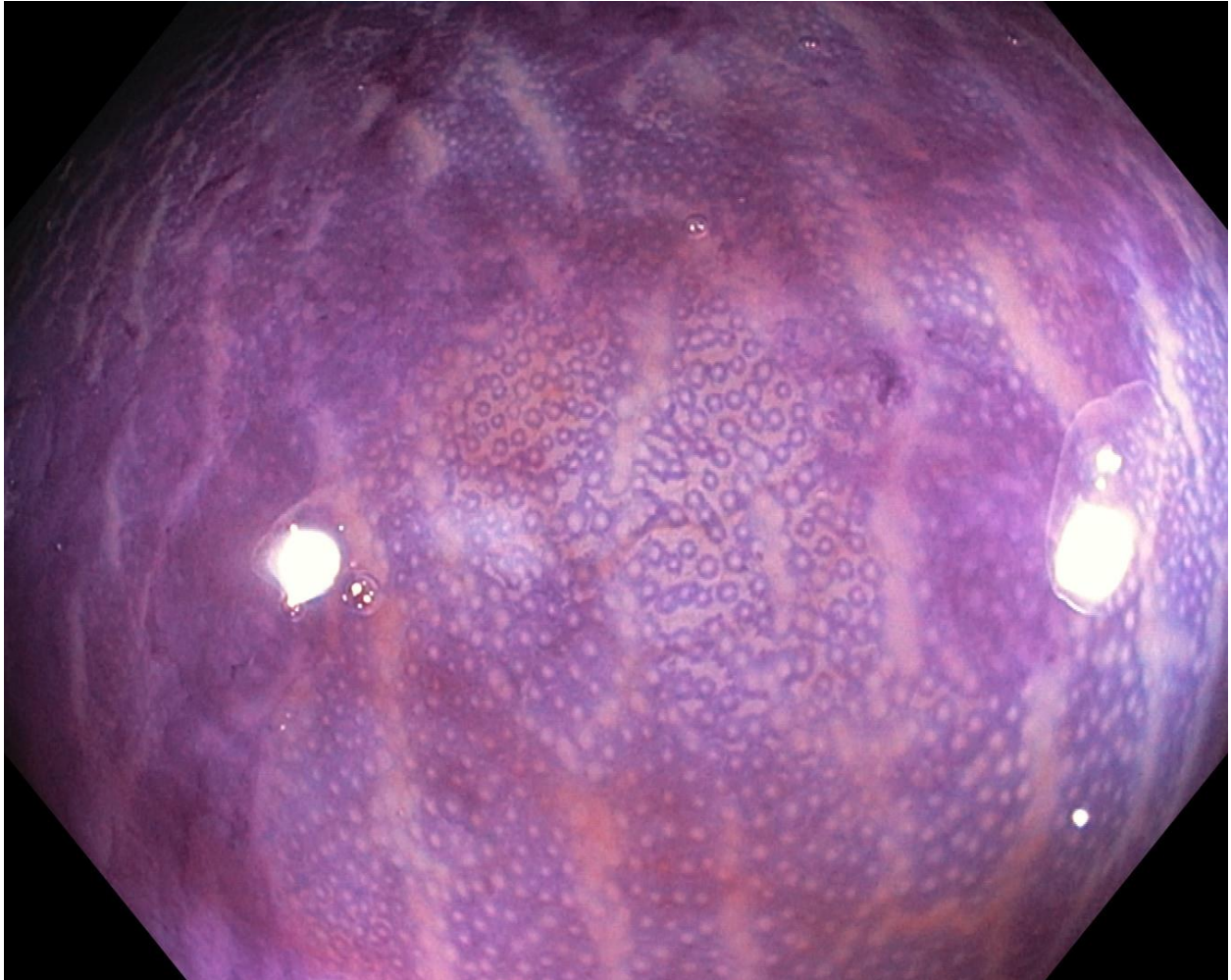
Прави впечатление, че според тази класификация наличието на ерозии при Nishio степен 4 не съответства на наличието на ендоскопска ремисия, което е изключващ критерии в нашето проучване. Поради тази причина,

пациентите бяха класифицирани в 3 степени (**Фигури 7, 8 и 9**). При наличието на характеристика за повече от една степен при даден пациент се приемаше по-тежката степен. Ендоскопските характеристики бяха оценявани *in situ* от двама опитни ендоскописти и един обучаващ се ендоскопист. След всяко изследване се преглеждаха и направените видеозаписи и снимков материал. Окончателното степенуване на криптовия рисунок се приемаше след съгласие между поне двама от ендоскопистите. При всеки пациент са взети по две биопсии от ректалната лигавица за хистологично изследване по класификациите на Matts, Riley и по още два показателя - базалната плазмоцитоза и еозинофилна инфилтрация в ламина проприя.

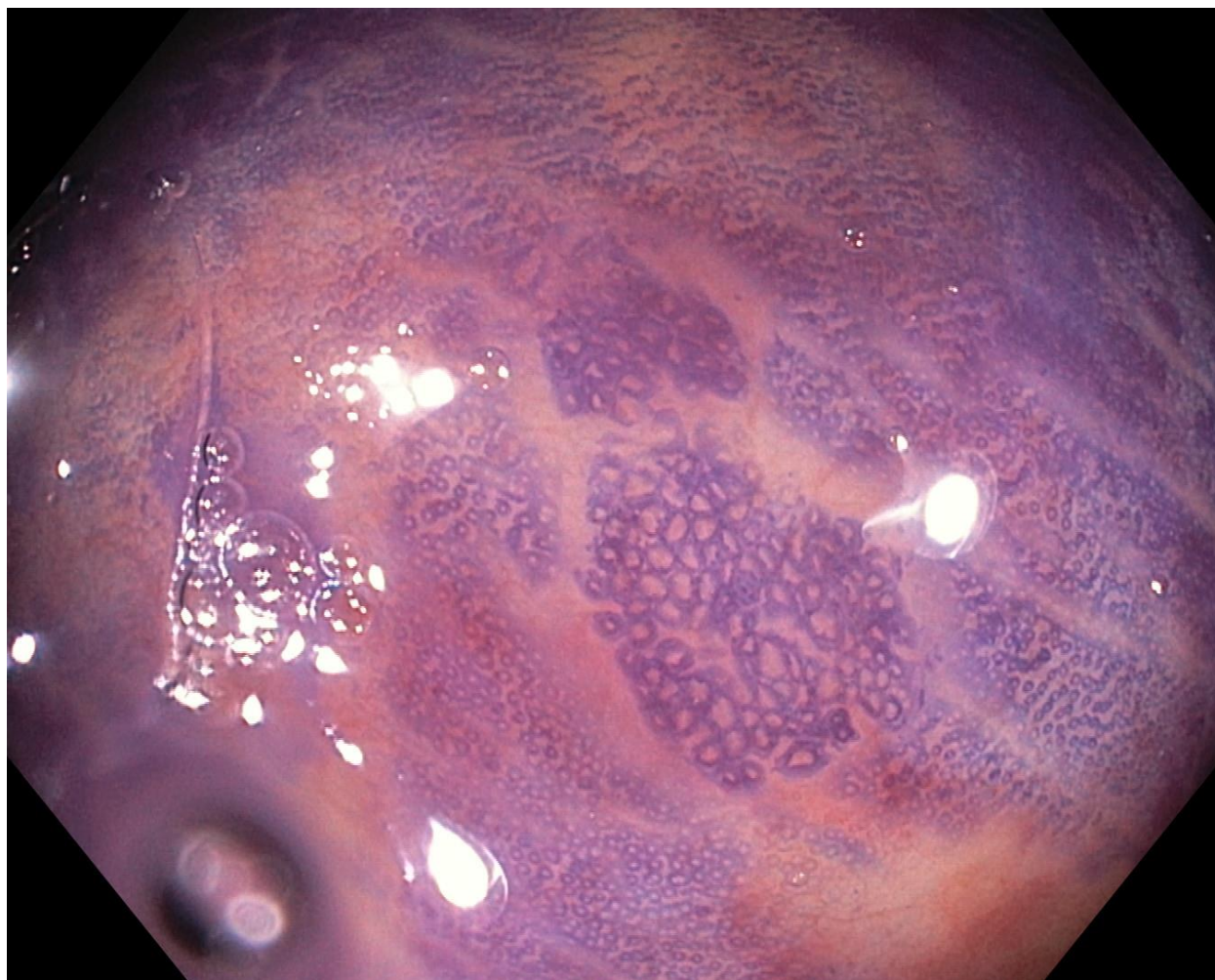
Всички участници в тази част от проучването са с предходни данни за засягане на ректалната лигавица. Нито един няма първичен склерозиращ холангит като съпътстващо заболяване и никой не е докладвал алергия към използваната боя – кристал виолет.



Фигура 7. Степен А по Nishio - малки отвори, с правилна кръгла форма и правилно подреждане



Фигура 8. Степен В по Nishio - отворите са с по-големи размери, с овална форма и по-неправилно подреждане



Фигура 9. Степен С по Nishio - отворите са с разнообразна форма и големина и са неправилно подредени

3.11 Хистологично изследване

При всички пациенти в настоящето проучване диагнозата е поставена и по установените хистологични критерии. В група от пациенти с УК извършихме по-подробна хистологична оценка, за чиято цел използвахме класификациите на Matts, Riley, определяне на базалната плазмоцитна инфилтрация и еозинофилната инфилтрация в ламина проприя. Хистологичните изследвания са извършени в Отделението по патологична анатомия на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД.

Една от първите класификации, използвани от гастроинтестиналните патолози за оценка на степента на възпаление и увреждане на дебелочревната лигавица при пациенти с УК е на Matts (143). Тя е много бърза и удобна за употреба в клиничната практика. Състои се от 5 степени:

Степен 1 – Нормален микроскопски образ

Степен 2 – Лека кръглоклетъчна или полиморфонуклеоядрена инфилтрация на мукозата или на ламина проприя

Степен 3 - Изразена кръглоклетъчна или полиморфонуклеоядрена инфилтрация на мукозата или на ламина проприя и на субмукозата.

Степен 4 – Наличие на крипт-абсцеси и изразена инфилтрация на всички слоеве на мукозата

Степен 5 – Наличие на язви, ерозии или некроза на мукозата с клетъчна инфилтрация на някои или на всички ѝ слоеве.

При класификацията на Райли се оценяват шест хистологични характеристики – 3 от тях, съответстващи на остро възпаление (остър възпалително-клетъчен инфилтрат, крипт абсцеси, и изчерпване на муцина), а другите 3, съответстват на хронично възпаление (нарушена епителна повърхност, хроничен възпалително-клетъчен инфилтрат и нарушения на криптовата архитектура) (145). Всеки един от шестте показатели се разделя на 4 степени, според тежестта си – липсва, лека, умерена и изразена тежест.

Базалната плазмоцитоза се дефинира като плътна инфилтрация от плазмоцитни клетки в долната трета на мукозата. Тя и еозинофилната инфилтрация в ламина проприя се оценяват според интензивността на инфилтратата отново в 4 степени – липсващ, лек, умерен и изразен (152).

3.12 Статистически методи

Данните са съхранявани в таблици на Excel (Microsoft Office Excel 2003). Статистическият анализ бе извършен от професионален статистик от Секция „Биостатистика и медицинска информатика“ на Катедра „Социална медицина и здравен мениджмънт“ при МУ – София (д-р Тодор Кундурджиев) чрез SPSS за Windows, версия 16.0. (SPSS Inc., Chicago, USA). За анализиране на данните се използваха следните статистически методи:

- дескриптивна статистика за таблично и графично представяне на получените резултати;
- тест на Kolmogorov-Smirnov;
- корелационен коефициент на Spearman;
- корелационен коефициент на Pearson;
- тест на Shapiro-Wilk;
- тест на Mann-Whitney;
- t-тест;
- ROC анализ;
- kappa коефициент на съгласие;
- Fisher's Exact Test;
- Kruskal-Wallis Test;
- Log Rank test;
- тест за преживяемост на Kaplan–Meier;
- бинарна логистична регресия за количествено оценяване на факторите на влияние на изследваните показатели.

Получените резултати бяха оценени като статистически значими при $p < 0,05$.

3.13 Етични норми

Проучването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания в Медицински университет – София. Преди включването всички пациенти и здрави контроли попълниха информирано съгласие. Всички субекти се съгласиха да участват след като бяха информирани за методите, процедурите и целите на проучването. Освен това, изследването е извършено в съответствие с принципите на добрата клинична практика и етичните стандарти заложи в Декларацията от Хелзинки от 1964 г. и последващите ѝ изменения.

РЕЗУЛТАТИ

1. Фактори, влияещи върху честотата на релапсиране при пациентите с ВЧЗ

От проследените 289 пациенти с ВЧЗ, 136 (47,1%) релапсират в рамките на една година от проследяването, съответно 64 (48,1%) с БК и 72 (46,2%) с УК. Между първата и втората година от проследяването релапсират 55 (19 %) пациенти, съответно 25 (18,8%) с БК и 30 (19,2%) с УК. До края на втората година релапсират общо 191 (66,1 %) пациенти, съответно 89 (66,9%) с БК и 102 (65,4%) с УК. Над 2 години в стабилна ремисия остават 98 (33,9%) от пациентите в проучването, 44 (33,1%) с БК и 54 (34,6%) с УК.

В подгрупата с БК (n=133) до една година от проследяването релапсират 64 (48,1%) от пациентите, т.е. според дизайна на нашето проучване са често релапсиращи, а останалите - 69 (51,9%) са рядко релапсиращи. От последните 25 (18,8%) релапсират между първата и втората година от проследяването.

Още 16 (12% от всички пациенти с БК) релапсират между втората и третата година. Общо 105 (78,9%) пациенти релапсират до края на третата година, като само 24 (18%) от проследените 133 пациента с БК са в стабилна ремисия повече от 3 година. Четирима (3%) пациенти са в ремисия повече от една година и все още не се релапсирали до края на проучването.

От често релапсиращите пациенти с БК 32 са мъже и 32 жени, а от рядко релапсиращите - 33 мъже и 36 жени. Липсват статистически значими разлики между фактора пол и честотата на релапсиране при пациентите с БК ($p=0,802$) (Таблица 5).

Таблица 5. Съпоставяне на фактора пол с честотата на релапсиране при пациенти с болест на Крон (БК)

БК	Често релапсиращи		Рядко релапсиращи		Общо		Р
	N	%	N	%	N	%	
Мъже	32	50,0	33	47,8	65	48,9	0,802
Жени	32	50,0	36	52,2	68	51,1	
Общо	64	100,0	69	100,0	133	100,0	

От често релапсиращите пациенти с БК (n=64), 46 (71,9%) са непущачи, 16 (25%) пушачи и 2 (3,1%) са бивши пушачи. От рядко релапсиращите (n=69), 53 (76,8%) са непущачи, 14 (20,3%) са пушачи и 2 (2,9%) са бивши пушачи. Липсва статистическа значимост по отношение на фактора тютюнопушене за честотата на релапсиране при пациентите с БК (p=0,509) (Таблица 6).

Таблица 6. Съпоставяне на фактора тютюнопушене с честотата на релапсиране при пациенти с болест на Крон (БК)

БК	Често релапсиращи		Рядко релапсиращи		Общо		Р
	N	%	N	%	N	%	
Тютюнопушене							0,509
Не	46	71,9	53	76,8	99	74,4	
Да	16	25,0	14	20,3	30	22,6	
Бивши	2	3,1	2	2,9	4	3,0	
Общо	64	100,0	69	100,0	133	100,0	

Средната възраст на често релапсиращите пациенти с БК е 37,8 г.±14,2 (19-72), а на рядко релапсиращите 45,1±14,8 (23-81). Налице е статистически значима разлика между фактора възраст и честотата на релапсиране (p=0,001) (Таблица 7).

Средната продължителност на заболяването при често релапсиращите пациенти с БК е 2,9 г.±3,9 (0,2-25), а на рядко релапсиращите – 10,2 г.±8,7 (1-

40). Установихме статистически значима разлика по отношение на този фактор между често и рядко релапсиращите пациенти ($p < 0,001$) (Таблица 7).

Таблица 7. Съпоставяне на факторите продължителност на заболяването и възраст с честотата на релапсиране при пациентите с болест на Крон (БК) и улцерозен колит (УК)

	Релапси	N	Mean	SD	Median	Min	Max	p
БК продължителност на болестта	Рядко	69	10,2	8,7	7,5	1,0	40,0	<0,001
	Често	64	2,9	3,9	1,0	0,2	25,0	
УК продължителност на болестта	Рядко	84	12,2	9,4	9,0	2,0	45,0	<0,001
	Често	72	2,9	4,2	2,0	0,2	31,0	
Възраст УК	Рядко	84	47,9	14,8	46,0	24,0	86,0	0,001
	Често	72	40,3	14,1	39,0	18,0	77,0	
Възраст БК	Рядко	69	45,1	14,8	44,0	23,0	81,0	0,001
	Често	64	37,8	14,2	36,0	19,0	72,0	

При пациентите с УК ($n=156$) 72 (46,2%) са често релапсиращи, а 84 (53,8%) – рядко релапсиращи. От последните, 30 (19,2%) пациенти релапсират между първата и втората година от проследяването; между втората и третата година релапсират още 26 (16,7%) пациенти. Само 28 (17,9%) от проследените 156 пациенти с УК са в стабилна ремисия повече от 3 години.

Анализът по отношение пола на пациентите показва, че сред често релапсиращите 36 са мъже и 36 жени, а сред рядко релапсиращите - 45 мъже и 39 жени. И при пациентите с УК не открихме статистическа значимост между фактора пол и честотата на релапсиране ($p=0,656$) (Таблица 8).

Таблица 8. Съпоставяне на фактора пол с честотата на релапсиране при пациенти с улцерозен колит (УК)

УК	Често релапсиращи		Рядко релапсиращи		Общо		p
	N	%	N	%	N	%	
Мъже	36	50,0	45	53,6	81	51,9	0,656
Жени	36	50,0	39	46,4	75	48,1	
Общо	72	100,0	84	100,0	156	100,0	

Непушачи са 55 (76,4%) от често релапсиращите пациенти с УК, 13 (18,1%) са пушачи и 4 (5,5%) са бивши пушачи. От рядко релапсиращите (n=84), 67 (79,8%) са непущачи, 15 (17,8%) са пушачи и 2 (2,4%) са бивши пушачи. Липсва статистическа значимост по отношение на фактора тютюнопушене за честотата на релапсиране при пациентите с УК (Таблица 9).

Таблица 9. Съпоставяне на фактора тютюнопушене с честотата на релапсиране при пациенти с улцерозен колит (УК)

УК	Често релапсиращи		Рядко релапсиращи		Общо		p
	N	%	N	%	N	%	
Тютюнопушене							0,896
Не	55	76,4	67	79,8	122	78,2	
Да	13	18,1	15	17,9	28	17,9	
Бивши	4	5,6	2	2,4	6	3,8	
Общо	72	100,0	84	100,0	156	100,0	

Средната възраст на често релапсиращите пациенти с УК е 40,3 г.±14,1 (18-77), а на рядко релапсиращите 47,9±14,8 (24-86), като е на лице статистически значима разлика между фактора възраст и честотата на релапсиране (p=0,001) (Таблица 7).

Често релапсиращите пациенти с УК са със средна продължителност на заболяването от 2,9 г.±4,2 (0,2-31), а рядко релапсиращите – със средна продължителност от 12,2 г.±9,4 (2-44). Налице е статистически значима

разлика по отношение на този фактор между често и рядко релапсиращите пациенти ($p < 0,001$) (Таблица 7).

Както се вижда и при двете заболявания (БК и УК) факторите продължителност на заболяването и възраст са статистически значимо свързани с настъпването на релапс. Поради тази причина и при двата фактора чрез бинарна логистична регресия изчислихме odds ratio (OR), за да оценим вероятността от настъпване на релапс (Таблица 10 и 11).

Таблица 10. Бинарна логистична регресия за количествено оценяване на фактора възраст за настъпване на релапс. OR – odds ratio

	OR	95% CI		p
Възраст	0,964	0,941	0,987	0,002

Таблица 11. Бинарна логистична регресия за количествено оценяване на фактора продължителност на болестта за настъпване на релапс. OR – odds ratio

	OR	95% CI		p
БК - продължителност на болестта	0,740	0,655	0,837	<0,001
УК - продължителност на болестта	0,673	0,584	0,776	<0,001

От таблици 10 и 11 става ясно, че всяко нарастване на възрастта с една година води до намаляване на шанса от релапс с 3,6%. Освен това, всяко увеличаване на продължителността на заболяването с една година води до намаляване на шанса от релапс с 26% при пациентите с БК и 32,7% при пациентите с УК.

2. Диагностична стойност на ФКП при ВЧЗ и роля на ФКП за определяне на активност, ремисия и мукозно оздравяване при пациенти с ВЧЗ

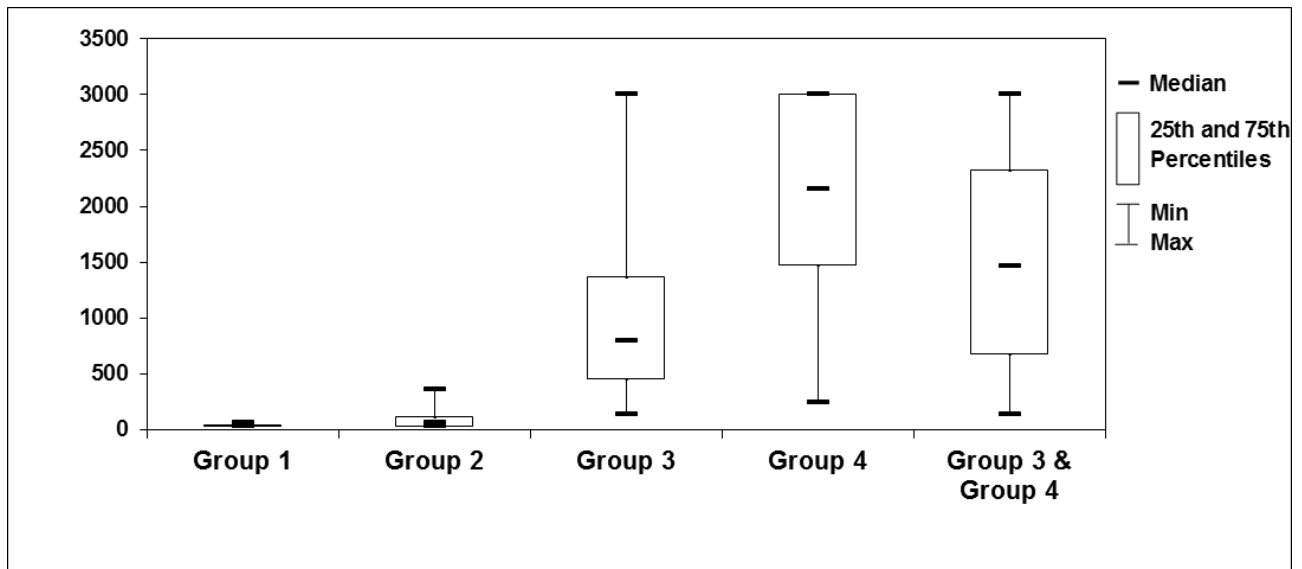
За да определим диагностичната стойност на ФКП при ВЧЗ и ролята на ФКП за определяне на активност, ремисия и мукозно оздравяване при БК, използвахме група от 76 последователни пациенти с БК (41 в клинична и ендоскопска ремисия – мукозно оздравяване, 35 с активна БК) и 18 здрави контроли. ФКП е изследван с бърз количествен имунохроматографски тест (Quantum Blue).

Участниците в проучването бяха разделени на четири групи – *група 1* – здрави контроли (n=18), *група 2* – пациенти с БК в ремисия (n=41), *група 3* – БК с активност и локализация в илеума – L1 (n=18) и *група 4* – БК в активност с колонна или илео-колонна локализация (n=17). На **Таблица 12** са представени средните стойности на ФКП в тези четири групи.

Таблица 12. Стойности на ФКП при здрави контроли, пациенти с БК в ремисия, пациенти с БК в активност с локализация в илеума, пациенти с БК в активност с колонна или илео-колонна локализация и общо при пациентите с БК в активност.

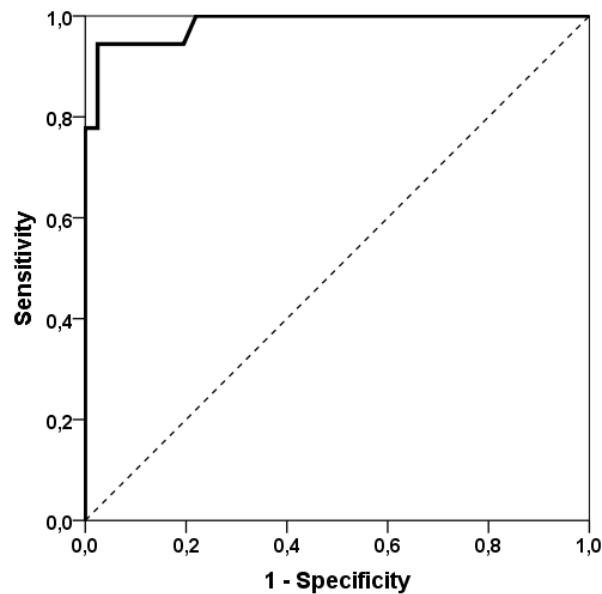
Група	N	Mean	SD	Median	Min	Max
Група 1 (здрави контроли)	18	34,72	7,43	31,00	30,00	58,00
Група 2 (БК в ремисия)	41	97,12	85,48	60,00	30,00	360,00
Група 3 (БК в активност L1)	18	958,44	694,25	800,00	136,00	3000,00
Група 4 (БК в активност L2 и L3)	17	2143,35	882,29	2150,00	247,00	3000,00
Група 3 & Група 4	35	1533,97	984,05	1460,00	136,00	3000,00

При сравнителен анализ се установи, че стойностите на ФКП на пациентите с БК в ремисия са значимо по-високи, в сравнение със съответните при здравите контроли ($p=0,001$). Статистически значима разлика е налице и между средните стойности на ФКП на здравите контроли (група 1), спрямо съответните стойности при пациентите с БК - от група 3 ($p<0,001$), група 4 ($<0,001$) и група 3 & 4 ($<0,001$). Установяваме значима разлика и при сравняване на стойностите на ФКП на пациентите от група 2, с тези от група 3 ($<0,001$), група 4 ($<0,001$) и група 3 & 4 ($<0,001$). Освен това, нивата на ФКП на пациентите с изолирана тънкочревна БК (L1) се различават значимо от съответните стойности на пациентите от подгрупата с дебелочревна (L2) и с илеоколонна (L3) локализация ($<0,001$) (**Фигура 10**).

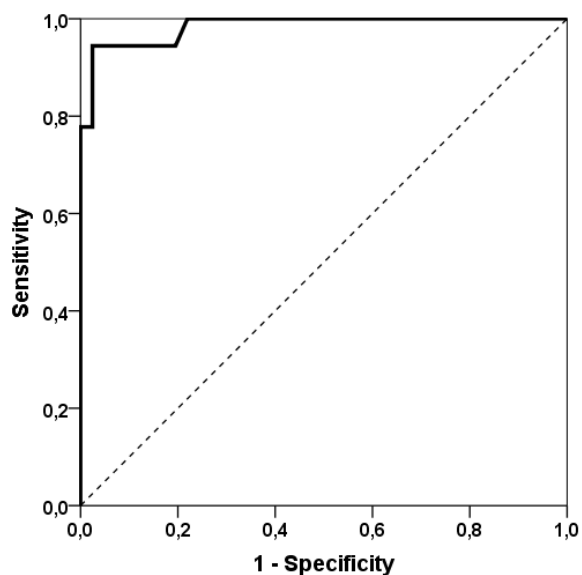


Фигура 10. Сравняване на стойностите на ФКП при здрави контроли (група 1), пациенти с БК в ремисия (група 2), пациенти с БК в активност с локализация в илеума (група 3), пациенти с БК в активност с колонна или илео-колонна локализация (група 4) и общо при пациентите с БК в активност (група 3&4).

Установихме, че гранична стойност (cut-off) на ФКП от 315 $\mu\text{g/g}$ разграничава пациентите с БК в ремисия от тези с активност в илеума с 94 % чувствителност, 98 % специфичност и AUC 0,984 (Фигура 11) и от тези с БК в активност, независимо от локализацията със същата чувствителност (94%) и специфичност (98%) при AUC 0,989 (Фигура 12).



Фигура 11. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на нивата на ФКП на пациентите с БК в ремисия (група 2) с активна илеална БК (група 3)



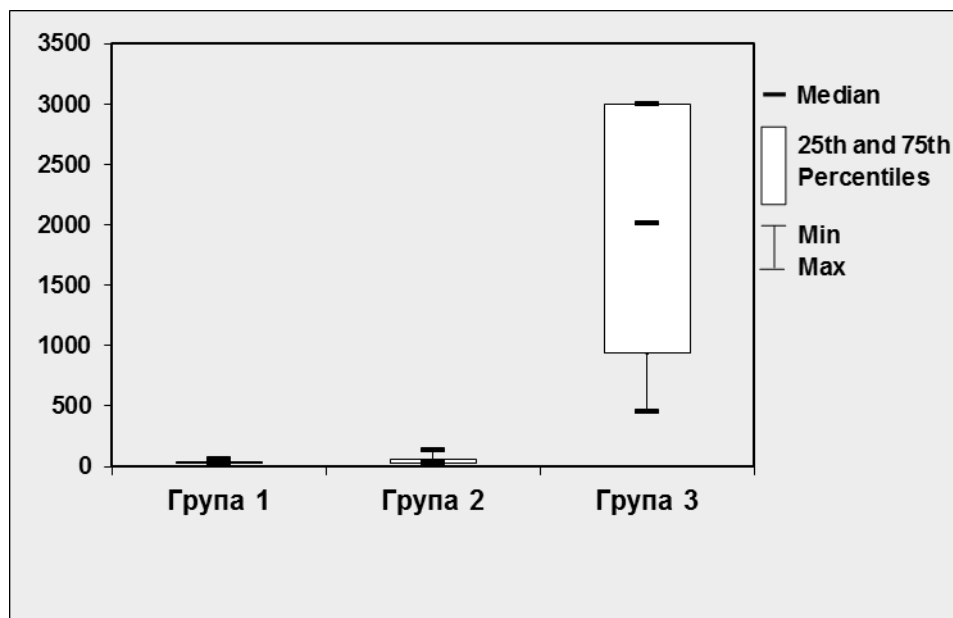
Фигура 12. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на нивата на ФКП на пациентите с БК: в ремисия (група 2) и в активност (група 3&4).

Използвахме група от 45 последователни пациенти с УК и 18 здрави контроли, за да определим диагностичната стойност на ФКП при УК, изследван с бърз количествен имунохроматографски тест (Quantum Blue). Разделихме субектите на три групи: *група 1* – здрави контроли (n=18), *група 2* – пациенти с УК в ремисия (n=20) и *група 3* – пациенти с УК в активност (n=25). Средните стойности на ФКП при отделните групи са показани на **таблица 13**.

Таблица 13. Стойности на ФКП при здрави контроли, пациенти с УК в ремисия и пациенти с УК в активност.

Група	N	Mean	SD	Median	Min	Max
Група 1 (контроли)	18	34,72	7,43	31,00	30,00	58,00
Група 2 (УК в ремисия)	20	47,10	26,91	36,50	30,00	136,00
Група 3 (УК в активност)	25	1933,08	940,98	2010,00	450,00	3000,00

При сравнителен анализ не се установи статистически значима разлика между средните стойности на ФКП на здравите контроли (34,72 $\mu\text{g/g}$) и тези, на пациентите с УК в ремисия (47,10 $\mu\text{g/g}$) ($p=0,205$). Но пациентите с УК в активност (1933,08 $\mu\text{g/g}$) имат значимо по-високи средни стойности на ФКП, както в сравнение с тези на здравите контроли (34,72 $\mu\text{g/g}$), ($p<0,001$), така и в сравнение с подгрупата пациенти в ремисия (47,10 $\mu\text{g/g}$), ($p<0,001$) (**Фигура 13**).



Фигура 13. Сравняване на стойностите на ФКП при здрави контроли (група 1), пациенти с УК в ремисия (група 2) и в активност (група 3).

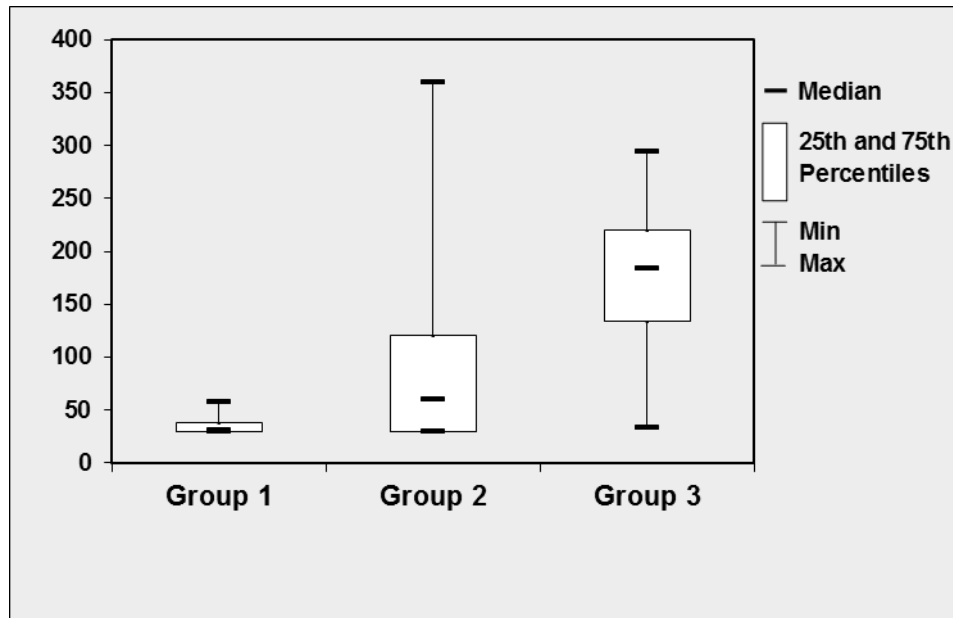
3. Стойности на ФКП при пациенти с БК в ендоскопска ремисия след дясна хемиколектомия

На **таблица 14** са представени стойностите на ФКП при здрави контроли, пациенти с БК в ремисия и пациенти с БК в ремисия след дясна хемиколектомия (ДХК).

Таблица 14. Стойности на ФКП при здрави контроли, пациенти с БК в ремисия и пациенти с БК в ремисия с дясна хемиколектомия

Група	N	Mean	SD	Median	Min	Max
Група 1 (здрави контроли)	18	34,72	7,43	31,00	30,00	58,00
Група 2 (БК в ремисия)	41	97,12	85,48	60,00	30,00	360,00
Група 3 (БК в ремисия след ДХК)	18	176,78	66,38	184,00	33,00	294,00

Както бе споменато по-горе, пациентите с БК в ремисия имат значимо по-високи стойности на ФКП (97,12 $\mu\text{g/g}$), в сравнение със съответните стойности на здравите контроли (34,72 $\mu\text{g/g}$), ($p=0,001$). Прави впечатление, че стойностите на ФКП при пациентите с БК в ремисия след ДХК (176,78 $\mu\text{g/g}$) са значимо по-високи не само от съответните стойности при здравите контроли (34,72 $\mu\text{g/g}$), ($p<0,001$), но и от стойностите на пациентите с БК след медикаментозно постигната ремисия (97,12 $\mu\text{g/g}$), ($p<0,001$) (**Фигура 14**).



Фигура 14. Сравняване на стойностите на ФКП при здрави контроли (група 1), пациенти с БК в ремисия (група 2) и пациенти с БК в ремисия след дясна хемиколектомия (група 3).

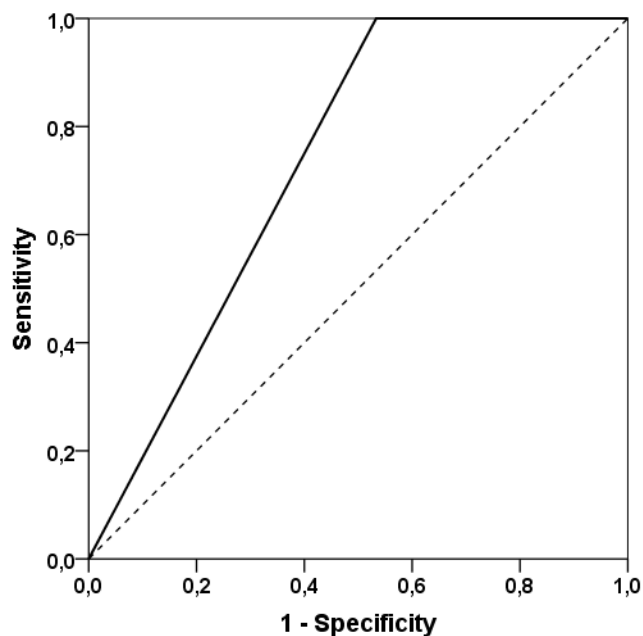
4. Съпоставяне на ФКП с конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност

На **Таблица 15** са представени данните за чувствителност, специфичност, позитивна предсказваща стойност (PPV) и негативна предсказваща стойност (NPV) на ФКП и конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност при пациенти с БК, като СУЕ, CRP, брой на левкоцитите, брой на тромбоцитите и фибриноген.

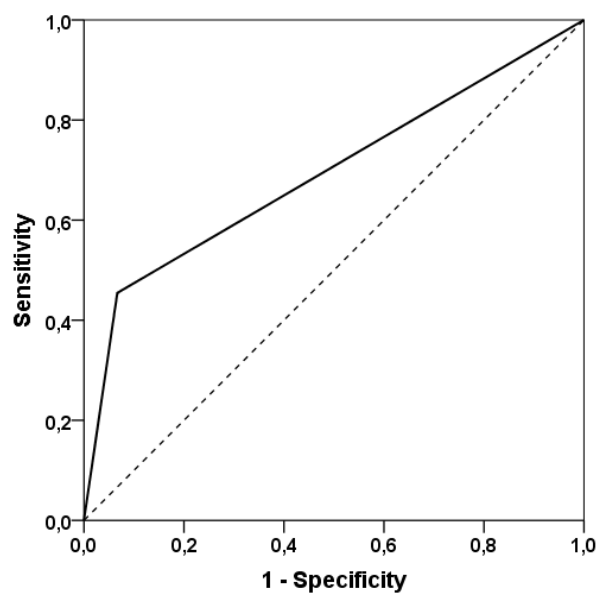
Таблица 15. Чувствителност, специфичност, позитивна предсказваща стойност (PPV) и негативна предсказваща стойност (NPV) на ФКП и конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност при пациенти с БК.

Показател	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	PPV (%)	NPV (%)
СУЕ	31,8	100,0	100,0	50,0
CRP	45,5	93,3	90,9	53,8
Левкоцити	18,2	93,3	80,0	43,8
Фибриноген	27,3	93,3	83,7	46,7
ФКП	100,0	46,7	73,3	100,0
Тромбоцити	18,2	100,0	100,0	45,5

При пациентите с БК, ROC анализът описва най-голяма зона под кривата (area under the curve – AUC) при ФКП (AUC 0,733, $p=0,017$ - **Фигура 15**), последвана от CRP (AUC 0,694, $p=0,048$ - **Фигура 16**). При останалите показатели няма статистическа значимост - фибриноген (AUC 0,603, $p=0,293$), левкоцити (AUC 0,558, $p=0,557$), СУЕ (AUC 0,659, $p=0,104$) и тромбоцити (AUC 0,591, $p=0,353$).



Фигура 15. ROC анализ със зона под кривата (AUC) на ФКП при пациенти с болест на Крон.



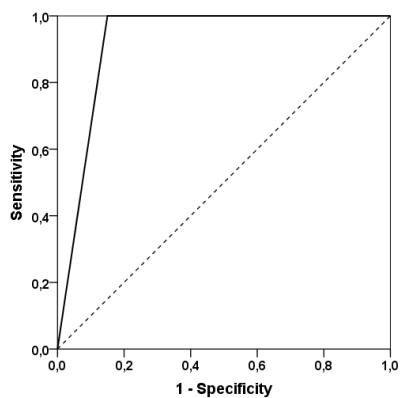
Фигура 16. ROC анализ със зона под кривата (AUC) на CRP при пациенти с болест на Крон.

На **Таблица 16** са представени данните за чувствителност, специфичност, позитивна предсказваща стойност (PPV) и негативна предсказваща стойност (NPV) на ФКП и конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност при пациенти с УК, като СУЕ, CRP, брой на левкоцитите, брой на тромбоцитите и фибриноген.

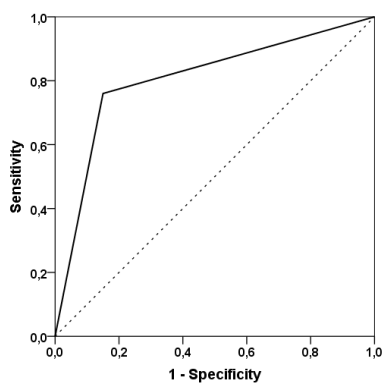
Таблица 16. Чувствителност, специфичност, позитивна предсказваща стойност (PPV) и негативна предсказваща стойност (NPV) на ФКП и конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност при пациенти с УК.

Показател	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	PPV (%)	NPV (%)
СУЕ	36,0	90,0	81,8	52,9
CRP	76,0	85,0	86,4	73,9
Левкоцити	43,5	100,0	100	60,6
Тромбоцити	8,0	95,0	66,7	45,2
Фибриноген	48,0	95,0	92,3	59,4
ФКП	100,0	85,0	89,3	100,0

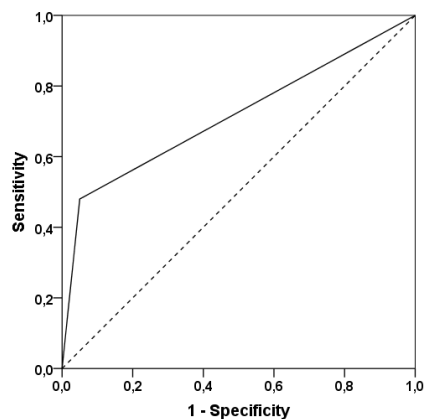
При пациентите с УК е направен ROC анализ, описващ най-голяма зона под кривата (area under the curve – AUC) при ФКП (AUC 0,925, $p < 0,001$ - **Фигура 17**), последвана от CRP (AUC 0,795, $p = 0,001$ - **Фигура 18**), фибриноген (AUC 0,736, $p = 0,008$ – **Фигура 19**), левкоцити (AUC 0,717, $p = 0,015$ – **Фигура 20**), СУЕ (AUC 0,646, $p = 0,103$) и тромбоцити (AUC 0,497, $p = 0,971$). Както се вижда при показателте СУЕ и тромбоцити няма статистическа значимост.



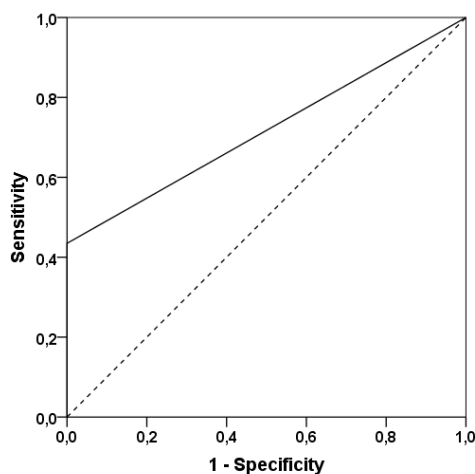
Фигура 17. ROC анализ със зона под кривата (AUC) на ФКП при пациенти с улцерозен колит.



Фигура 18. ROC анализ със зона под кривата (AUC) на CRP при пациенти с улцерозен колит.



Фигура 19. ROC анализ със зона под кривата (AUC) на фибриноген при пациенти с улцерозен колит.



Фигура 20. ROC анализ със зона под кривата (AUC) на броя на левкоцитите при пациенти с улцерозен колит.

5. Съпоставяне на стойностите на ФКП с клинични и ендоскопски индекси на активност за ВЧЗ

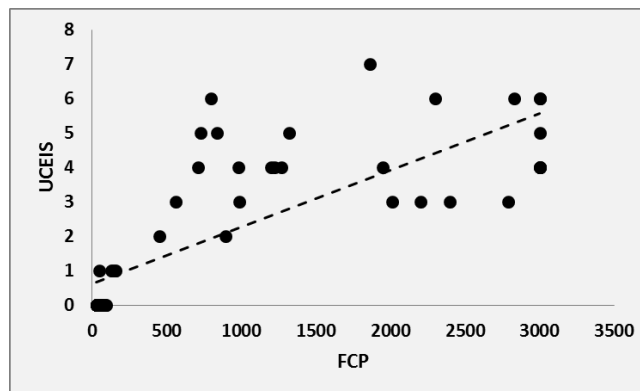
Установяваме много силна корелация между стойностите на ФКП и стойностите на UCEIS (корелационен коефициент на Spearman $r=0.869$, $p<0.001$ – **Фигура 21**); стойностите на ендоскопския Мейо скор – EMS ($r=0,814$, $p<0.001$ – **Фигура 22**), а също и клиничния индекс на Лихтигер ($r=0,836$, $p<0.001$ – **Фигура 23**). Много силна корелация намираме и при съпоставяне стойностите на UCEIS и тези, на EMS ($r=0,922$, $p<0.001$ – **Фигура 24**). Клиничният индекс на Лихтигер също корелира много силно с ендоскопските индекси – EMS ($0,836$, $p<0.001$ – **Фигура 25**) и UCEIS ($r=0,862$, $p<0.001$ – **Фигура 26**).

Умерена корелация намираме между стойностите на ФКП и CDAI ($r=0,59$, $p=0,001$). При сравнителен анализ ФКП показва статистическа значимост ($p<0,001$) спрямо ендоскопската активност. Средните стойности на ФКП при пациентите с БК и с лигавични изменения ($1359,4 \pm 1114,3 \mu\text{g/g}$) са

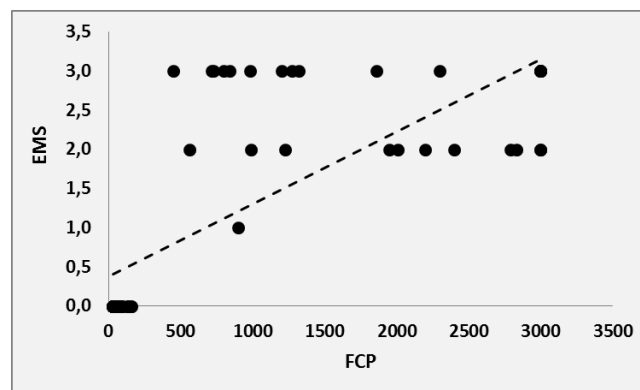
значимо по-високи, в сравнение със съответните параметри при пациентите без ендоскопски промени ($139,2 \pm 132 \mu\text{g/g}$) (Таблица 17).

Таблица 17. Сравняване на стойностите на ФКП между пациентите с БК с и без ендоскопска активност.

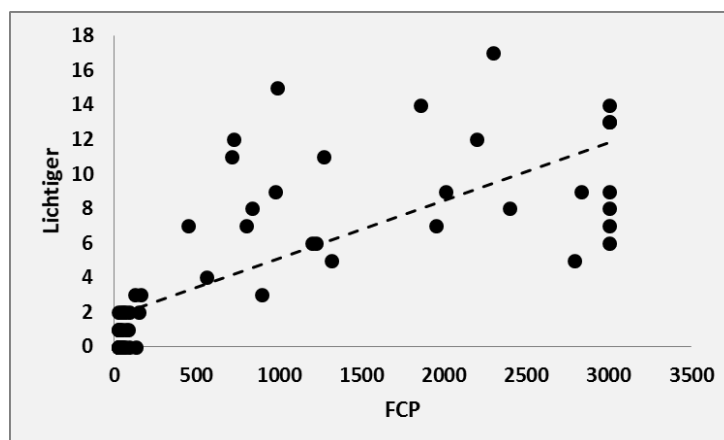
Ендоскопска активност	N	Mean	SD	Median	Min	Max	p
Не	15	139,2	132,0	100,0	30,0	516,0	<0,001
Да	22	1359,4	1114,3	1200,0	136,0	3000,0	



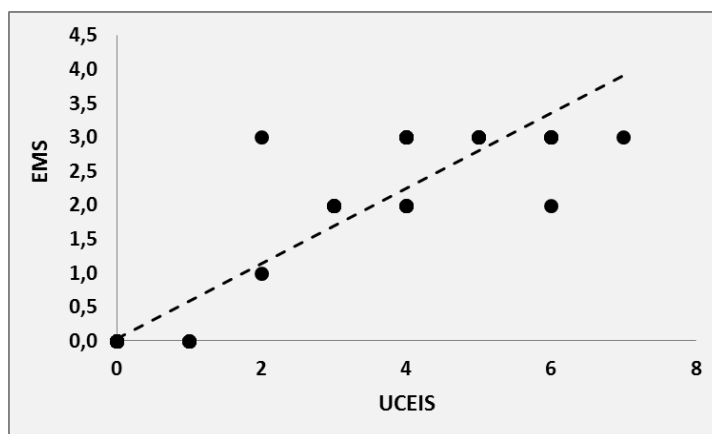
Фигура 21. Корелация между стойностите на ФКП и UCEIS ($r=0.869$)



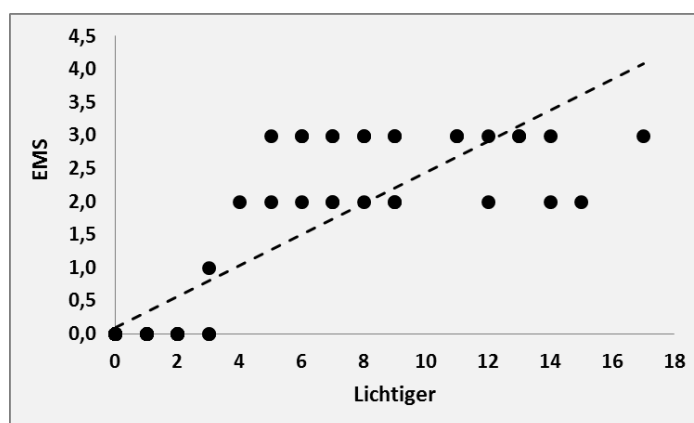
Фигура 22. Корелация между стойностите на ФКП и ендоскопския Мейо скор (EMS) ($r=0,814$)



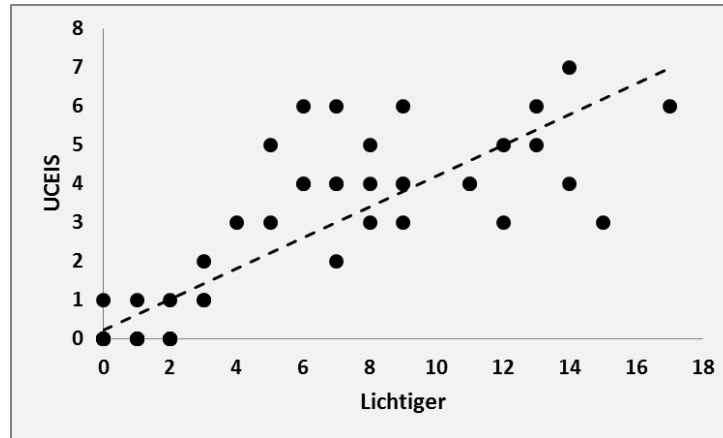
Фигура 23. Корелация между ФКП и Lichtiger Index ($r=0,836$)



Фигура 24. Корелация между EMS и UCEIS ($r=0,922$)



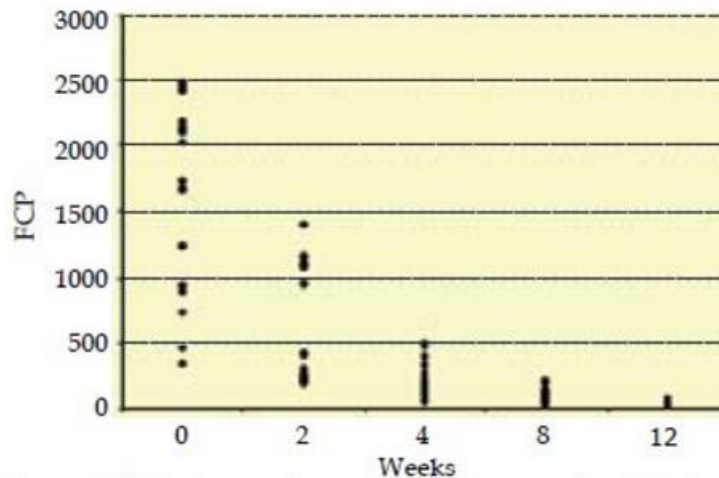
Фигура 25. Корелация между ендоскопския Мейо скор (EMS) и Lichtiger Index ($r=0,836$)



Фигура 26. Корелация между UCEIS и Lichtiger Index ($r=0,862$).

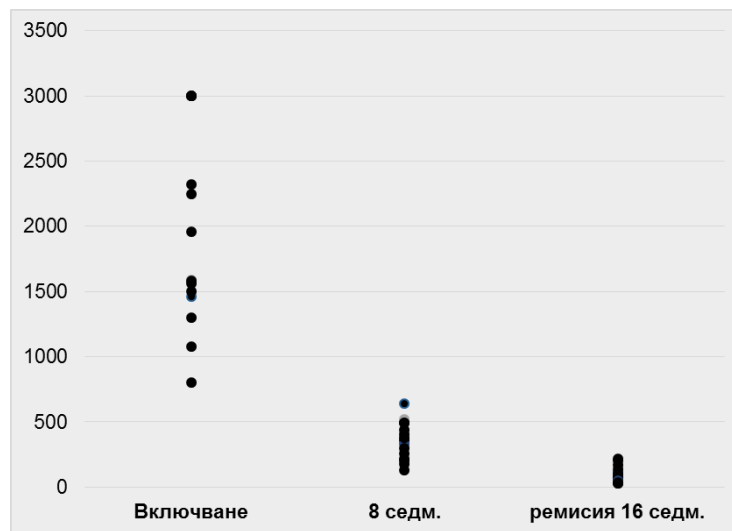
6. Роля на ФКП за мониториране на терапевтичния отговор

При група от 14 болни с активен УК изследвахме ФКП преди и в хода на конвенционално лечение (2-ра, 4-та, 8-ма и 12-та седмица), до достигане на клинична и ендоскопска ремисия. От фигурата се вижда редуциране на стойностите на ФКП в хода на терапевтичния курс (**Фигура 27**).



Фигура 27. Редуциране на стойностите на ФКП в хода на конвенционален терапевтичен курс при пациенти с УК

При 15 проследени пациенти с БК, също установяваме редуциране на стойностите на ФКП в хода на лечение, съответно на 8-ма и 16-та седмица от започване на лечението. На 16-та седмица беше установена клинична и ендоскопска ремисия (**Фигура 28**).



Фигура 28. Редуциране на стойностите на ФКП в хода на конвенционален терапевтичен курс при пациенти с БК

7. Роля на ФКП при предсказването на релапс при пациенти с ВЧЗ в ремисия

40 пациенти с ВЧЗ в ремисия (20 с УК и 20 с БК) са проследени в рамките на 2 години с изследване на ФКП на всеки два месеца. Всички конкретни резултати на пациентите при всяка една визита са показани на **Таблицы 18 и 19**:

Таблица 18. Проследяване на пациенти с УК на всеки два месеца с ФКП до настъпване на релапс или до 24-я месец. Стойностите на ФКП са дадени в $\mu\text{g/g}$

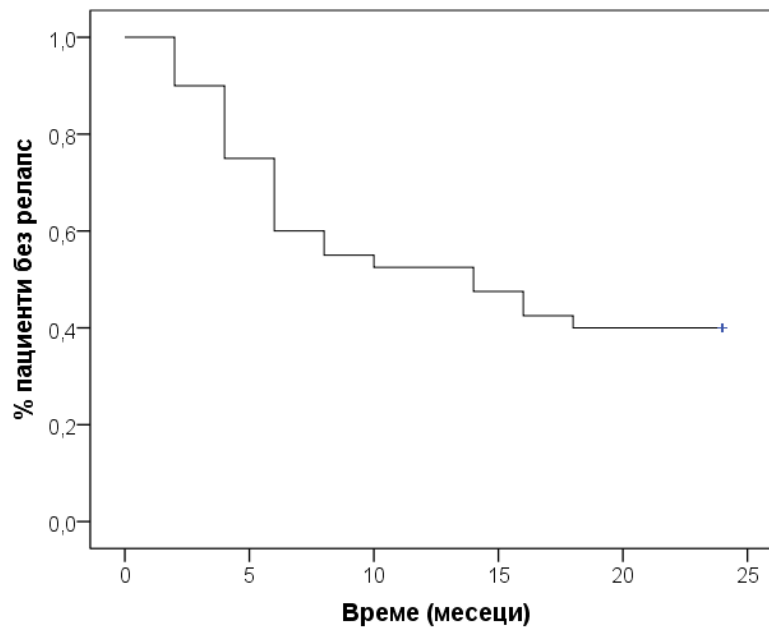
пациенти	включване	2 месец	4м.	6м.	8м.	10м.	12м.	14м.	16м.	18м.	20м.	22м.	24м.
УК 1	30	30	52	39	39	38	53	99	82	54	36	30	30
УК 2	30	30	43	46	34	30	30	30	38	30	30	30	30
УК 3	39	64	68	72	94	156	112	101	60	50	201	48	39
УК 4	30	34	30	30	36	30	30	38	42	30	30	30	30
УК 5	58	34	68	72	44	38	30	33	30	30	34	48	30
УК 6	71	69	30	30	30	126	30	30	30	30	30	30	30
УК 7	30	30	34	38	36	30	30	38	42	30	30	30	30
УК 8	34	66	84	102	84	68	48	58	84	116	112	161	136
УК 9	72	68	70	56	61	83	59	183	246	релапс			
УК 10	91	88	62	93	74	92	112	270	релапс				
УК 11	30	30	54	48	30	34	156	152	релапс				
УК 12	30	30	44	130	релапс								
УК 13	128	128	94	156	релапс								
УК 14	74	94	96	300	релапс								
УК 15	65	30	30	213	релапс								
УК 16	42	44	279	релапс									
УК 17	136	198	272	релапс									
УК 18	68	76	91	релапс									
УК 19	45	43	релапс										
УК 20	43	74	релапс										

Таблица 19. Проследяване на пациенти с БК на всеки два месеца с ФКП до настъпване на релапс или до 24-я месец. Стойностите на ФКП са дадени в $\mu\text{g/g}$

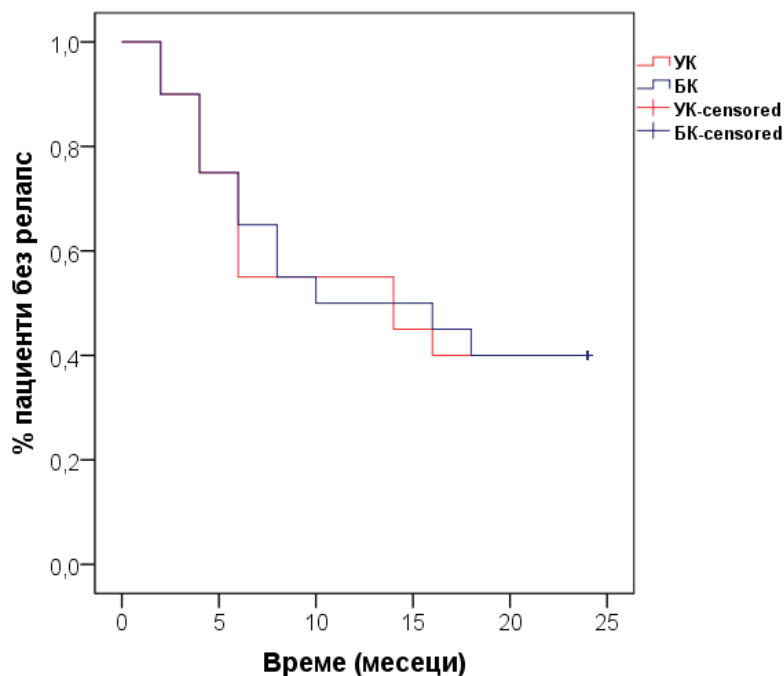
пациенти	включване	2 месец	4м.	6м.	8м.	10м.	12м.	14м.	16м.	18м.	20м.	22м.	24м.
БК 1	103	30	30	37	300	63	30	30	48	30	30	30	30
БК 2	30	30	52	30	30	30	44	31	30	30	58	50	30
БК 3	119	54	30	30	72	52	35	32	30	46	30	30	38
БК 4	30	78	215	102	30	30	30	37	33	30	30	30	42
БК 5	60	76	116	252	77	30	30	36	46	53	65	74	71
БК 6	78	69	30	30	30	120	63	30	30	40	30	30	30
БК 7	75	66	84	102	84	68	48	58	84	116	112	161	130
БК 8	48	78	30	54	68	61	30	30	46	30	36	44	48
БК 9	106	91	88	62	93	74	82	110	126	272	релапс		
БК 10	37	30	64	90	87	82	77	92	252	релапс			
БК 11	97	48	99	97	86	157	релапс						
БК 12	215	123	108	116	250	релапс							
БК 13	136	129	95	101	181	релапс							
БК 14	52	30	39	48	релапс								
БК 15	99	90	116	215	релапс								
БК 16	173	214	300	релапс									
БК 17	153	144	181	релапс									
БК 18	102	97	201	релапс									
БК 19	122	288	релапс										
БК 20	204	198	релапс										

От проследените 40 пациенти с ВЧЗ в ремисия (20 УК, 20 БК), 19 (47,5%) релапсират в рамките на една година от проследяването, съответно 10 (50%) с БК и 9 (45%) с УК. Между първата и втората година от проследяването релапсират 5 (12,5%), съответно 2 (10%) с БК и 3 (15%) с УК.

До 24-ия месец (края на проучването) релапсират общо 24 (60%) пациенти, съответно 12 (60%) с БК и 12 (60%) с УК. Над 2 години в стабилна ремисия остават 16 (40%) от пациентите в проучването, съответно 8 (40%) с БК и 8 (40%) с УК (**Фигури 29 и 30**).



Фигура 29. Крива на Kaplan–Meier за настъпване на релапс при всички пациенти с IBD.



Фигура 30. Крива на Kaplan–Meier за настъпване на релапс при пациентите с УК и с БК.

Средната продължителност до настъпване на релапс общо за пациентите с ВЧЗ е 13,9 месеца. Липсва статистическа значимост между времето на настъпване на релапс при пациентите с БК (13,8 месеца) и тези с УК (14,0 месеца) (Log Rank test, $p=0.959$) (Таблица 20).

Таблица 20. Средна продължителност до настъпване на релапс за пациенти с ВЧЗ, УК и БК:

Група	Mean	95% CI	
ВЧЗ (УК+БК)	13.90	11.09	16.70
УК	13,80	9,82	17,78
БК	14,00	10,05	17,95

Средните изходни стойности на ФКП (при включване в проследяването) на пациентите с ВЧЗ, които релапсират в рамките на 24 месеца са ($96,67 \pm 53,29$ $\mu\text{g/g}$ (30-215) - статистически значимо по-високи от съответните стойности при нерелапсиралите ($54,06 \pm 28,4$ $\mu\text{g/g}$ (30-119), ($p=0,006$) (**Таблица 21**).

Анализът на данните при проследените пациенти с БК показва, че средните изходни стойности на ФКП на пациентите, които релапсират в рамките на проучването ($124,67 \pm 54,76$ $\mu\text{g/g}$ (37-215) са значимо по-високи $67,88 \pm 32,35$ $\mu\text{g/g}$ (30-119), в сравнение със съответните стойности при нерелапсиралите пациенти ($p=0,021$) (**Таблица 21**).

Подобно, в групата с УК, изходните стойности на ФКП в подгрупата с релапс ($68,67 \pm 35,07$ $\mu\text{g/g}$ (30-136) са значимо по-високи, в сравнение с подгрупата без релапс ($40,25 \pm 15,69$ $\mu\text{g/g}$ (30-71)), ($p=0,029$) (**Таблица 21**).

Таблица 21. Сравнителен анализ на изходните стойности на ФКП на релапсиращи и нерелапсиращи пациенти с ВЧЗ (общо УК и БК), УК и БК

Група	Релапс	N	Mean	SD	Median	Min	Max	p
ВЧЗ	Не	16	54,06	28,40	43,50	30,00	119,00	0,006
	Да	24	96,67	53,29	94,00	30,00	215,00	
УК	Не	8	40,25	15,68	32,00	30,00	71,00	0,029
	Да	12	68,67	35,07	66,50	30,00	136,00	
БК	Не	8	67,88	32,35	67,50	30,00	119,00	0,021
	Да	12	124,67	54,76	114,00	37,00	215,00	

На базата на посочените в **Таблицы 22 и 23** данни, се установи, че гранична стойност (cut-off) на ФКП от 63 $\mu\text{g/g}$ при включване в проучването разграничава релапсиралите от нерелапсиралите пациенти с ВЧЗ в рамките на 24 месеца с 70,8 % чувствителност, 68,8 % специфичност и AUC 0,758 (**Таблицы 22, 23 и Фигура 31**).

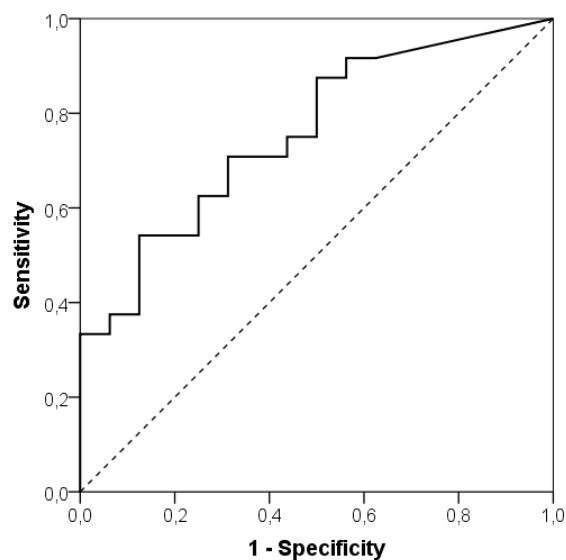
ROC анализът демонстрира, че cut-off на ФКП от 43 $\mu\text{g/g}$ при включването разграничава релапсиралите от нерелапсиралите болни с УК с 75% чувствителност, 75% специфичност и AUC 0,792 (**Таблицы 22, 23 и Фигура 32**), а cut-off от 98 $\mu\text{g/g}$ разграничава релапсиралите от нерелапсиралите пациенти с БК с 75% чувствителност, 75% специфичност и AUC 0,813 (**Таблицы 22, 23 и Фигура 33**).

Таблица 22. ROC анализ, показващ AUC, SE, p и 95% CI на стойностите на ФКП при включване в проучването на пациентите с ВЧЗ (общо УК и БК), пациентите с УК и тези с БК

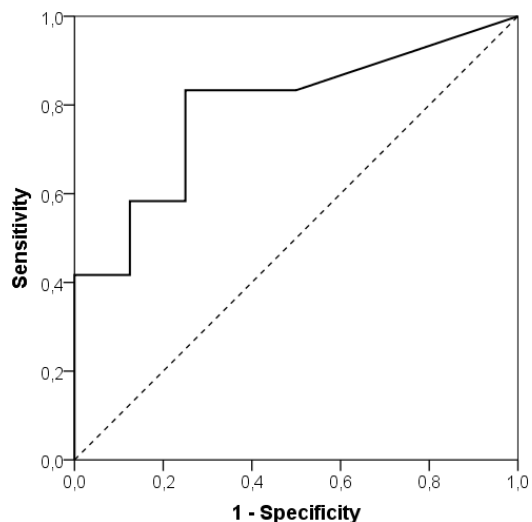
Група	AUC	SE	p	95%CI	
ВЧЗ	0,758	0,076	0,006	0,609	0,907
УК	0,792	0,103	0,031	0,589	0,994
БК	0,813	0,097	0,021	0,623	1,000

Таблица 23. Гранични стойности (cut-off) на ФКП за отдиференциране на релапсиралите и нерелапсиралите пациенти с ВЧЗ, пациентите с УК и тези с БК при включване в проучването.

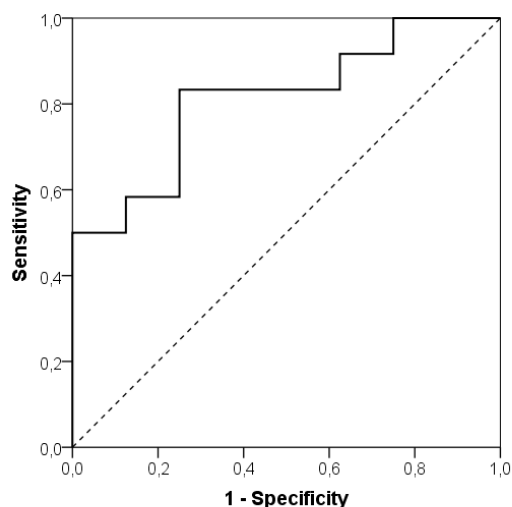
Група	Cut-off	Чувствителност	Специфичност
ВЧЗ	63,00	70,8	68,8
УК	43,00	75,0	75,0
БК	98,00	75,0	75,0



Фигура 31. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на стойностите на ФКП при включване между релапсиралите и нерелапсиралите пациенти с ВЧЗ в рамките на 24 месеца.



Фигура 32. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на стойностите на ФКП при включване между релапсиралите и нерелапсиралите пациенти с УК в рамките на 24 месеца.



Фигура 33. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на стойностите на ФКП при включване между релапсиралите и нерелапсиралите пациенти с БК в рамките на 24 месеца.

Средните стойности на ФКП на последната визита преди настъпване на релапс при всички пациенти с ВЧЗ са $198,71 \pm 79,17 \mu\text{g/g}$ (43-300), срещу $64,11 \pm 43,53 \mu\text{g/g}$ (30-300) средни стойности на ФКП, непосредствени от релапс. Сравнителният анализ показва, че стойностите на ФКП преди релапс са статистически значимо по-високи ($p < 0,001$). При всички релапсирани пациенти релапсът настъпва в рамките на два месеца от последната визита (т.е. в този период те съобщават за поява на клинични оплаквания, явяват се на извънреден преглед, на който релапсът е обективизиран и ендоскопски). Някои от пациентите съобщиха за клинична симптоматика на поредната двумесечна визита и релапсът беше обективизиран тогава. Средното време на настъпване на релапс от последната визита при пациентите с ВЧЗ е 38 дни (20-60).

Средните стойности на ФКП за групата с УК са $185,5 \pm 89,26 \mu\text{g/g}$ (43-300) преди настъпване на релапс и $57,56 \pm 36,93 \mu\text{g/g}$ (30-201) - без последващ релапс, при наличие на статистическа значимост ($p < 0,001$). При пациентите с БК, средните стойности на ФКП преди релапс са $211,92 \pm 68,97 \mu\text{g/g}$ (48-300), а при не последвал релапс - $70,57 \pm 48,45 \mu\text{g/g}$ (30-300), при наличие на статистически значима разлика ($p < 0,001$) (**Таблица 24**).

Таблица 24. Сравнителен анализ на стойностите на ФКП преди релапс и тези, не предхождащи релапс при пациенти с ВЧЗ (общо УК и БК), УК и БК

Група	Релапс	N	Mean	SD	Median	Min	Max	p
ВЧЗ	Не	294	64,11	43,53	48,00	30,00	300,00	<0,001
	Да	24	198,71	79,17	207,00	43,00	300,00	
УК	Не	146	57,56	36,93	42,00	30,00	201,00	<0,001
	Да	12	185,50	89,26	184,50	43,00	300,00	
БК	Не	148	70,57	48,45	56,00	30,00	300,00	<0,001
	Да	12	211,92	68,97	208,00	48,00	300,00	

Проведеният ROC анализ демонстрира, че гранична стойност (cut-off) на ФКП от 130 $\mu\text{g/g}$ определя възможността от настъпване на релапс в рамките на следващите два месеца от изследването при пациентите с ВЧЗ с 83,3 % чувствителност, 93,2 % специфичност и AUC 0,919 (**Таблицы 25, 26 и Фигура 34**).

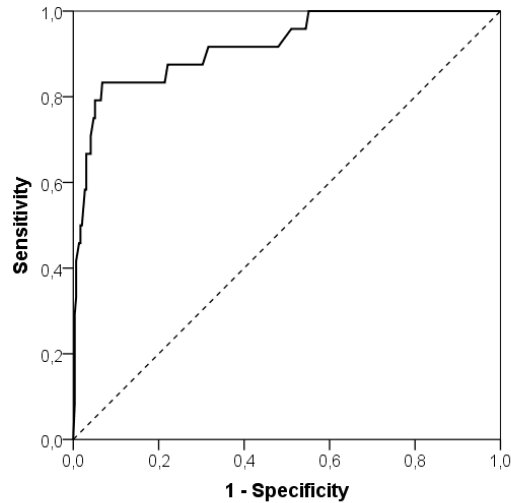
Също така, cut-off на ФКП от 90 $\mu\text{g/g}$ дефинира възможността от настъпване на релапс в рамките на следващите два месеца при болни с УК с 83,3% чувствителност, 82,9% специфичност и AUC 0,916 (**Таблицы 25, 26 и Фигура 35**), а cut-off от 155 $\mu\text{g/g}$ определя възможността от настъпване на релапс в рамките на следващите два месеца при пациенти с БК с 91,7 % чувствителност, 94,6 % специфичност и AUC 0,930 (**Таблицы 25, 26 и Фигура 36**).

Таблица 25. ROC анализ, показващ AUC, SE, P и 95% CI на стойностите на ФКП преди настъпване на релапс и на тези, непоследвани от релапс общо при пациентите с ВЧЗ (УК и БК), пациентите с УК и тези с БК

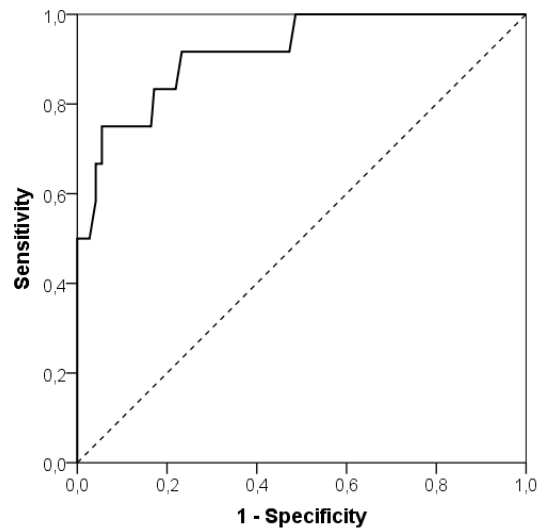
Група	AUC	SE	p	95%CI	
ВЧЗ	0,919	0,032	<0,001	0,857	0,981
УК	0,916	0,042	<0,001	0,835	0,998
БК	0,930	0,045	<0,001	0,842	1,000

Таблица 26. Гранични стойности (cut-off) на ФКП за възможността от настъпване на релапс в рамките на следващите два месеца при проследени пациенти с ВЧЗ (УК и БК), пациенти с УК и такива с БК.

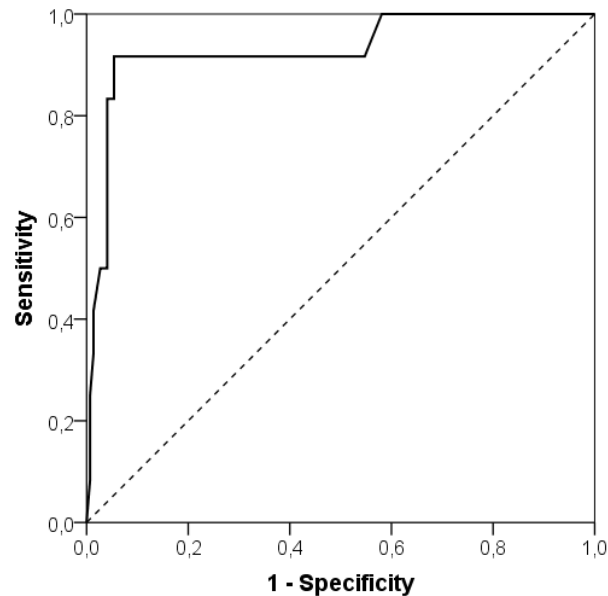
Група	Cut-off	Чувствителност	Специфичност
ВЧЗ	130,00	83,3	93,2
УК	90,00	83,3	82,9
БК	155,00	91,7	94,6



Фигура 34. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на стойностите на ФКП преди настъпване на релапс с тези, не последвани от релапс при пациенти с ВЧЗ (УК +БК).



Фигура 35. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на стойностите на ФКП преди настъпване на релапс с тези, не последвани от релапс при пациенти с УК.



Фигура 36. ROC анализ със зона под кривата (AUC) при сравняване на стойностите на ФКП преди настъпване на релапс с тези, непоследвани от релапс при пациенти с БК.

Анализът на данните от бинарната логистична регресия за количествено оценяване на факторите, влияещи на релапса показва, че всяко повишаване на ФКП с единица води до увеличаване на риска от релапс с 1,027 пъти (Таблица 27).

Таблица 27. Бинарна логистична регресия за количествено оценяване на фактора фекален калпротектин (ФКП) за настъпване на релапс. OR – odds ratio

	OR	95% CI		p
ФКП	1,027	1,005	1,049	0,015

8. Роля на TFF3 при оценка на чревното възпаление при пациенти с ВЧЗ

8.1 Стойности на TFF3 при контролната група

Данните от дескриптивната статистика на стойностите на TFF3 при контролната група и подгрупите пациенти с УК в активност и в ремисия, както и тези с БК, съответно в активност и в ремисия са представени на **Таблица 28**. За повишени приемаме стойности над средната стойност в контролната група (5.85) + стандартното отклонение (1.96) - $/X + 1.96 \cdot SD/$ т.е. над 7.48 ng/ml. В нашето проучване всички контроли изследвани с ELISA са под тази стойност.

Таблица 28. Серумни нива на TFF3 (ng/ml)

TFF3	N	Mean	Median	SD	Min	Max
Контролна група	16	5,85	5,82	0,83	4,69	7,04
УК в активност	16	10,12	10,28	2,41	6,50	13,54
БК в активност	16	6,67	6,66	1,38	4,28	8,97
УК в ремисия	16	5,76	5,74	0,72	4,69	6,90
БК в ремисия	16	6,48	6,52	0,93	5,15	8,51

8.2 Стойности на TFF3 при пациенти с активно ВЧЗ

Стойностите на TFF3 при пациентите с активен УК и активна БК са представени на **Таблица 28**. Средната стойност на TFF3 в групата с активен УК (n=16) е 10.12 ng/ml, което е сигнификантно по-високо от стойностите на TFF3 при контролната група ($p < 0.0001$). Средните стойности на TFF3 при пациентите с активна БК (6.67 ng/ml) не се различават значимо от средните стойности на контролите ($p = 0.093$) (**Фигура 37**). Но пациентите с активен УК имат сигнификантно по-високи стойности на TFF3, в сравнение с пациентите с БК в активност ($p < 0.001$) (**Фигура 37**).

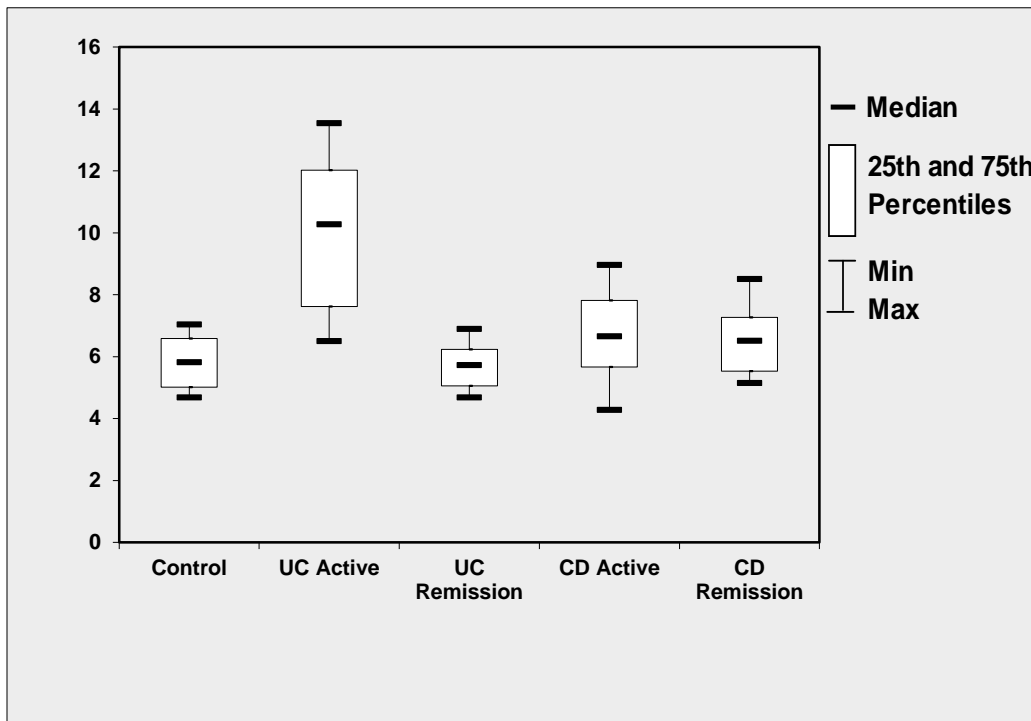
8.3 Стойности на TFF3 при пациенти с ВЧЗ в ремисия

Пациентите с УК в ремисия имат сходни средни стойности на TFF3 (5.76 ± 0.72 ng/ml) с контролната група и логично липсва сигнификантна разлика ($p = 0.720$). Подобно, липсват значими разлики между средните стойности на TFF3 на пациентите с БК в ремисия (6.48 ± 0.93 ng/ml) и тези на здравите контроли ($p = 0.059$). Средните нива на TFF3 при пациентите с УК в ремисия са статистически значимо по-ниски, в сравнение с тези на пациентите с БК в ремисия ($p = 0.021$) (**Фигура 37**).

8.4 Сравняване на стойностите на TFF3 между пациентите с активно ВЧЗ и тези с ВЧЗ в ремисия

При анализ на получените резултати (**Таблица 28**) установяваме, че пациентите с активен УК имат най-високи нива на TFF3. Те са сигнификантно по-високи от тези на контролите, на пациентите с активна БК, на пациентите с УК в ремисия ($p < 0.001$) и на пациентите с БК в ремисия ($p < 0.001$). Не открихме статистически значима разлика между нивата на TFF3 при пациентите с активна БК и тези с БК в ремисия ($p = 0.522$). В същото време, обаче,

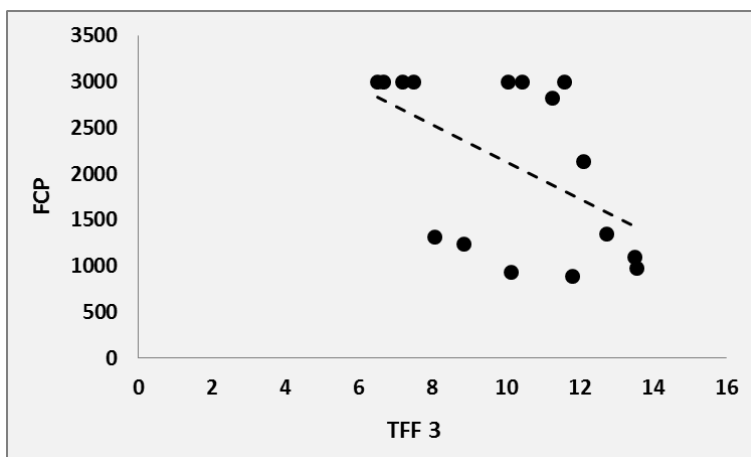
стойностите на TFF3 на пациентите с активна БК са сигнификантно по-високи от тези на пациентите с УК в ремисия ($p=0.029$) (Фигура 37).



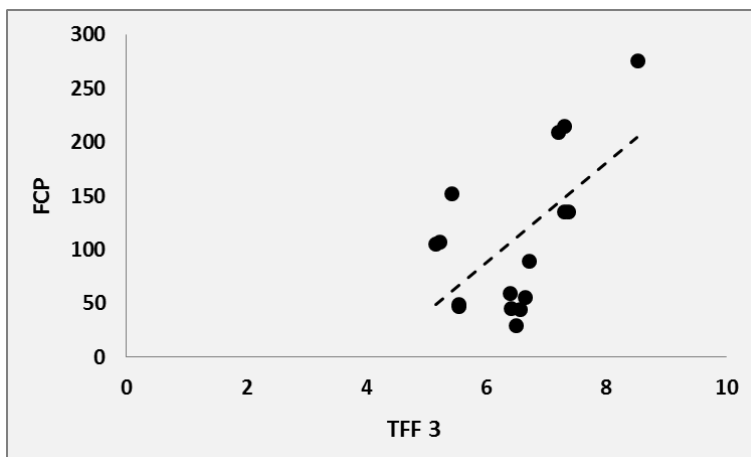
Фигура 37. Серумни нива на TFF3 при здрави контроли, пациенти с активен УК, пациенти с УК в ремисия, пациенти с активна БК и пациенти с БК в ремисия.

8.5 Съпоставяне на нивата на TFF-3 с ФКП при пациенти с ВЧЗ

При сравняване на стойностите на TFF3 с тези на ФКП, установихме умерена корелация при пациентите с УК - при групата с активен УК (корелационен коефициент на Pearson $r=0,516$, $p=0,041$) и при пациентите с УК в ремисия ($r=0,593$, $p=0,015$) (Фигури 38 и 39). При здравите контроли и при пациентите с БК корелация не бе установена.



Фигура 38. Корелация между стойностите на ФКП и ТФФ3 при пациенти с активен УК ($r=0,516$)



Фигура 39. Корелация между стойностите на ФКП и ТФФ3 при пациенти с УК в ремисия ($r=0,593$)

9. Роля на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и възможността ѝ за предсказване на релапс

Четири (22,2%) от 18-те пациента с УК с мукозно оздравяване са с подреждане на отворите на криптите тип А по Nishio, 4 – с тип В (22,2%) и 10 с тип С (55,6%). Коефициентът на съгласие между ендоскопистите за наблюдаваните характеристики по класификацията на Nishio е висок ($\kappa=0.727$, $p<0.001$).

От всички пациенти до момента релапсираха 5 (27,8%), като средното време на настъпване на релапс е 68 дни, т.е малко над 2 месеца. Немалка част от болните ($n=5$) са все още в период на проследяване и поради това резултатите ни все още не са окончателни. Въпреки това, прави впечатление, че всички релапсирали към днешна дата са с подредба на отворите на криптите тип С, като представляват 50% от всички пациенти с тип С.

Не бе открита сигнификантна разлика между стойностите на ФКП в различните групи пациенти по Nishio ($p=0.560$) (Таблица 29). Числено нивата на ФКП бяха по-високи при пациентите с криптов рисунок С, в сравнение с тези с А и В, но разликата не е значима ($p=0.342$) (Таблица 30).

Таблица 29. Сравняване на стойностите на фекален калпротектин (ФКП) с криптовия рисунок по Nishio

Nishio	FCP
A n=4	51.25 (30-116)
B n=4	45.75 (30-65)
C n=10	93,2 (30-300)
(Kruskal-Wallis Test) $p=0.560$	

Таблица 30. Сравняване на стойностите на фекален калпротектин (ФКП) при пациентите с криптов рисунок по Nishio степени А и В с нивата на ФКП при пациентите с криптов рисунок степен С.

Nishio	FCP
A+B n=8	53.5 (30-116)
C n=10	93,2 (30-300)
(Mann-Whitney Test) p=0.342	

Освен това, не бе открита и сигнификантна разлика между стойностите на СУЕ, CRP, брой на левкоцитите, брой на тромбоцитите и хемоглобин в различните групи пациенти по Nishio (Таблица 31).

Таблица 31. Сравняване на стойностите на СУЕ, CRP, брой на левкоцитите, брой на тромбоцитите и хемоглобин в различните групи пациенти по Nishio

Nishio	СУЕ	CRP	Leu	Thr	Hgb
A n=4	9.5 (5-12)	0.08 (0.05-0.14)	6.5 (4.7-8.0)	248 (206-320)	144 (125-161)
B n=4	7,5 (5-10)	0.1 (0.04-0.2)	6.8 (5.9-8.9)	232 (188-261)	167 (138-229)
C n=10	13.8 (2-50)	0.53 (0.02-2.14)	6.2(3.4-8.4)	220 (97-306)	144.5 (121-176)
P (Kruskal-Wallis Test)	0.702	0.173	0.732	0.674	0.536

При сравнителен анализ между стойностите на ФКП и хистологичните характеристики е наблюдавана корелация между ФКП и базалната плазмоцитноклетъчна инфилтрация ($r=0,639$, $p=0,004$), хроничния възпалително-клетъчен инфилтрат ($r=0,597$, $p=0,009$), архитектурата на криптите ($r=0,532$, $p=0,023$) и еозинофилната инфилтрация в ламина проприя ($r=0,468$, $p=0,049$) (Таблица 32).

Таблица 32. Сравнителен анализ между стойностите на ФКП и хистологичните характеристики на пациенти с УК в ремисия

Spearman's rho

ФКП	R	p	N
остър възп-кл инф	0,166	0,510	18
крипт абцеси	-0,024	0,925	18
изчер муцин	0,287	0,248	18
наруш епител	0,418	0,084	18
хр. възп-кл инфл.	0,597	0,009	18
архитектоника	0,532	0,023	18
баз плазмоц	0,639	0,004	18
Ео I. проп	0,468	0,049	18
Matts	0,393	0,107	18

Оценката на криптовия рисунок по Nishio с УХЕ корелира единствено с архитектурата на криптите ($r=0,546$, $p=0,019$) (Таблица 33).

Таблица 33. Сравнителен анализ между криптовия рисунок по Nishio и хистологичните характеристики на пациенти с УК в ремисия

Spearman's rho

Nishio	R	p	N
остър възп-кл инф	0,233	0,351	18
крипт абцеси	0,208	0,408	18
изчер муцин	-0,045	0,860	18
наруш епител	0,331	0,179	18
хр. възп-кл инфл.	0,101	0,690	18
архитектоника	0,546	0,019	18
баз плазмоц	0,206	0,411	18
Ео I. проп	0,178	0,480	18
Matts	0,420	0,082	18

ДИСКУСИЯ

1. Фактори, влияещи върху честотата на релапсиране при пациентите с ВЧЗ

Добре известно е, че ВЧЗ се характеризират с редуване на периоди на ремисия и релапс. Обострянята на болестта се непредвидими и настъпват по разнообразни причини. Персистиращата възпалителна активност се отразява отрицателно на физическото и психическото благосъстояние на пациента, социалните му показатели и работоспособността. Клиничните предиктори за честотата на релапсиране са може би най-добре проучените до момента (226-228).

Резултатите в нашето проучване показват, че по-младата възраст е свързана с по-често релапсиране и всяко нарастване на възрастта с една година води до намаляване на риска от релапс с 3,6%, както при УК, така и при БК. Големи популационни проучвания с 5 и 10-годишен период на проследяване на пациенти с ВЧЗ също потвърждават, че младата възраст на диагностициране е силно свързана с хода на болестта и честотата на релапсиране при БК и УК (229-231). Освен това, е доказано, че диагностицираните под 40-годишна възраст пациенти имат по-често релапсиране на болестта (229). Нашите данни също показват сходни резултати - по-често релапсират пациентите със средна възраст на диагностициране 37,8 г. за БК и 40,3 г. за УК.

Други автори демонстрират, че младата възраст на диагностициране и женския пол са свързани с по-често релапсиране (232, 233). Vitton и сътр. показват, че по-младите пациенти с УК, особено на възраст 20-30 г., релапсират по-бързо ($p=0.003$) (152). По-големият брой на предходни обострянния се свързва с по-кратко време до рецидив при жени, но не и при мъже. При нашите пациенти не установихме влияние на фактора пол върху

честотата на релапсиране, както при болните с УК, така и при тези с БК. Като изключим проучването на Vitton и сътр., няма много други данни в световната литература, които ясно да демонстрират влиянието на пола върху честотата на релапсиране (234).

Резултатите ни показват, че по-дългата продължителност на ВЧЗ е свързана с по-рядко релапсиране, съответно по-нисък риск от релапс, като всяко нарастване на продължителността на заболяването с една година води до намаляване на риска от релапс с 26% при пациентите с БК и 32,7% при пациентите с УК. Такива данни демонстрират и две други проучвания върху пациенти с УК, показващи, че рискът от релапс намалява с времето, докато рискът от усложнения, включително колоректален карцином, нараства, особено при наличие на разпространен колит (235, 236). При болни с БК, също така е посочена връзка между по-дългата продължителност на болестта и по-рядкото релапсиране (237)

Освен това, наскоро диагностицирано ВЧЗ или такова с продължителност под 5 години, се асоциира и с лош комплайънс спрямо медицинската терапия при почти една четвърт от пациентите (238). Това внушава, че лошият комплайънс е вероятно да е допринесъл към по-честия модел на релапсиране при пациентите ни с кратка продължителност на болестта. Въпреки, че в нашето проучване правилното придържане към терапията не можеше да бъде оценено, заради ретроспективното проследяване на част от пациентите, тези асоциации трябва да мотивират по-добрата връзка между лекар и пациент с цел достигане на по-висок комплайънс към лечебния подход.

Тютюнопушенето е смятан за един от най-силните предиктори на хода на болестта – доказано е, че води до по-тежко протичане при БК, докато изненадващо има протективна функция при УК и съответно непушачите и

бившите пушачи имат по-висок риск от релапс (233, 239-241). Въпреки това, при проследените от нас пациенти не открихме връзка между фактора тютюнопушене и честотата на рецидивите. Възможно обяснение за разликата между полученото от нас и популационните проучвания би могъл да е факта, че сме провели изследването в референтен университетски център и нашата кохорта отразява популация с по-тежки ВЧЗ. Освен това, при нашите пациенти броя на пушачите е значително по-малък от този на непушачите, което допълнително затруднява точната оценка на ефекта на фактора.

2. Диагностичната стойност на ФКП при ВЧЗ и ролята на ФКП за определяне на активност, ремисия и мукозно оздравяване при пациенти с ВЧЗ

Към момента в световната медицинска литература са натрупани достатъчно факти, демонстриращи връзката между стойностите на ФКП и тежестта на чревното възпаление при ВЧЗ. Именно затова, изследването на ФКП за определяне на ремисия и активност, както и за мониториране на терапевтичния отговор при тези болни е от съществено значение. Основната цел на съвременното лечение на пациентите с ВЧЗ е не просто подобряването на симптоматиката, но и постигане на мукозно оздравяване (МО).

Поради това, че честите ендоскопски изследвания са скъпи, трудоемки и неприятни за пациентите, все по-често като алтернатива за оценка на МО се използва ФКП. Към момента, са извършени само няколко малки изследвания по темата.

Roseth и сътр. извършили колоноскопия с биопсия на 45 пациенти с IBD в клинична ремисия и установили, че 38 от тях имат, както нормални стойности

на ФКП, така и нормална хистология (242). Lamb и сътр. съобщават, че пациентите с ВЧЗ, при които ремисията (клинична и ендоскопска) е потвърдена и хистологично, имат стойности на ФКП, близки до тези на здравите контроли (243). Това доказва наличието на МО. Затова той прави заключението, че ФКП може да се приеме като сурогатен маркер на МО (242).

В настоящото проучване не намираме статистически значима разлика между нивата на ФКП при здравите контроли и пациентите с УК в ремисия и така потвърждаваме наличието на МО. В обширно проучване на Schoerfer и сътр. средната стойност на ФКП при пациентите с УК в ремисия е 42.0 $\mu\text{g/g}$, което е много близко до получените от нас резултати 47,10 $\mu\text{g/g}$ (183). Подобни резултати получават и други автори. При част от пациентите с неактивен УК е възможно наличие на нискостепенно чревно възпаление, при което стойностите на ФКП са по-високи от нормата, но обикновено не надхвърлят 150 $\mu\text{g/g}$. В съответствие с тези предположения, в нашата група пациенти с УК в ремисия най-високата стойност на ФКП е 136 $\mu\text{g/g}$.

В същото време стойностите на ФКП при пациентите с активен УК са статистически по-високи от тези на здравите контроли и пациентите в ремисия. Поради липса на засичане на резултатите на ФКП между пациентите с активен УК и УК в ремисия нямаше как да се отдиференцира ясен cut-off между активност и ремисия при УК.

Средните стойности на ФКП при пациентите с БК в ремисия са 97,12 $\mu\text{g/g}$, което е сигнификантно по-високо от съответните стойности при здравите контроли 34,72 $\mu\text{g/g}$ ($p=0,001$). Подобно, стойностите на ФКП при пациентите с активна БК, независимо от локализацията, са сигнификантно по-високи от тези при БК в ремисия ($p<0,001$). Установихме, че стойности на ФКП под 315 $\mu\text{g/g}$ предсказват ремисия, а в случая и МО, с 94% чувствителност и 98%

специфичност. Подобни резултати демонстрират и други автори. D'Haens и колеги докладват, че при пациенти с БК, стойности на ФКП под 250 $\mu\text{g/g}$ предсказват МО с 94% чувствителност, 62% специфичност, PPV - 48% и NPV - 96% (64).

Получените резултати показват, че ФКП може да бъде използван като лесен и удобен маркер за отдиференциране на ремисия от активност при ВЧЗ, както и да се приеме като сурогатен маркер за МО.

Установени са и различни стойности на ФКП в зависимост от фенотипната изява (възпалителна, стриктурираща, пенетрираща) на БК (58). Някои автори смятат, че нивата на ФКП могат да зависят не само от вида болест, но и от органната локализация при БК (244, 245), но данните по този въпрос са все още недостатъчни и противоречиви. В настоящето проучване демонстрирахме, че стойностите на ФКП при пациентите с колонна или илеоколонна локализация са значимо по-високи от тези на пациентите с локализация в илеума ($p < 0,001$), като от своя страна последните са значително по-високи от тези на пациентите с БК в ремисия ($p < 0,001$).

Въпреки, че един от най-често цитираните недостатъци на ФКП е свързан с понижената му диагностична стойност при пациенти с тънкочревна БК, в изследването ни стойностите на ФКП на всички пациенти с активна БК и локализация L1 бяха повишени. Още повече, цитираната вече гранична стойност (cut-off) от 315 $\mu\text{g/g}$ с еднаква чувствителност (94%) и специфичност (98%) разграничава пациенти в ремисия от такива с активна тънкочревна БК или активна БК, независимо от локализацията.

Всичко описано до тук са малко или много известни факти, имащи нужда от допълнителни и по-обширни проучвания, за да навлязат още по-усилено в

ежедневната клинична практика. Най-голямата сила на тази част от разработката ни е, че това е едно от първите описания на голяма кохорта пациенти с ВЧЗ, изследвани с имунохроматографския метод Quantum Blue. Получените данни са напълно еднопосочни с получените при изследване с ELISA, като е доказано, че тестът може да служи като надеждна алтернатива на ELISA (5, 246-248). Считаме, че методът Quantum Blue е много полезен, поради това, че е лесен за изпълнение, може да бъде извършен във всеки лекарски кабинет или буквално до леглото на болния и е наистина бърз (резултатите се получават за по малко от 30 мин, вкл. и екстракцията на белтъка). Друго основно предимство на теста е простотата на приготвяне на пробите и анализа на резултатите. Не повече от 80 mg фекална проба са нужни за изследването, а анализът е лесен за изпълнение и не изисква специално оборудване, което прави тестът идеален за всяка лаборатория и лекарски кабинет. Доказано е, че Quantum Blue® е инструмента на избор за бързо и надеждно определяне на стойностите на ФКП (247).

3. Стойности на ФКП при пациенти с БК в ендоскопска ремисия след дясна хемиколектомия

Данните от литературата показват, че над 80% от пациентите с БК се нуждаят от оперативно лечение в рамките на 10 години от диагностицирането на заболяването (249). След резециране на терминалния илеум, до 80% имат ендоскопски рецидив в рамките на една година (136) и клиничен релапс в рамките на 3 до 5 години.

В нашето проучване пациентите с БК в ремисия след ДХК имат повишени стойностите на ФКП ($176,78 \pm 66,38 \mu\text{g/g}$), които са статистически значимо по-високи от тези на пациентите с БК в ремисия ($p < 0,001$) и на

здравите контроли ($p < 0,001$). Повишените стойности предполагат наличието на интестинално възпаление, за възникването на което допринася и ретроградната колонизация на илеума с дебелочревна флора след отстраняването на Баухиниевата клапа. В проучване на 63 пациенти с БК след илеоколонна резекция, Scarpa и сътр. показват, че ФКП остава повишен дори и при болните в клинична ремисия, внушавайки, че хирургичната резекция не премахва изцяло възпалителния процес (250).

4. Съпоставяне на ФКП с конвенционалните лабораторни маркери за възпалителна активност

Конвенционалните лабораторни маркери за възпаление демонстрират ниска чувствителност и специфичност при оценка на чревната възпалителна активност, а техният капацитет за предсказване на релапс е по-скоро неточен и противоречив.

Редица проучвания демонстрират, че от всички кръвни тестове CRP е най-чувствителен за определяне на активността при ВЧЗ. Чувствителността на теста варира между 50% и 60% при УК и между 70% и 100% при БК и зависи много и от използваната гранична стойност (251, 252). Атанасова и сътр. показват, че колкото по-голяма е разпространеността на УК, толкова по-високи са стойностите на CRP (208). Значително повече, обаче са изследванията, доказващи, че CRP е несигурен и нискочувствителен при оценка на чревното възпаление и не отразява адекватно болестната активност. (19, 154, 155, 253). Например, Tibble и сътр. докладват, че при гранична стойност от над 5 mg/l CRP има само 50 % чувствителност и 81 % специфичност за разграничаване на ВЧЗ от функционални гастроентрологични заболявания.

В нашето изследване най-чувствителен от лабораторните маркери, също се оказа CRP, като от всички серумни показатели само той корелираше значимо с възпалителната активност на БК. Изненадващо, CRP показва по-добра чувствителност (76%) при пациентите с УК, в сравнение с тези с БК (45,5%), но пък по слаба специфичност (85 % срещу 93,3%). Като възможна причина обсъждаме наличието на разпространен (панколит) УК и много активно възпаление при по-голямата част от пациентите с УК. Вероятно значение има и голямата хетерогенност в CRP отговора между пациентите с УК и БК, свързана с генетичен полиморфизъм.

Освен CRP, статистическа значимост за определяне на активността при УК демонстрираха също и броя на левкоцитите (чувствителност 43,5%, специфичност 100%, PPV – 100%, NPV – 60,6%, $p=0,015$) и фибриноген (чувствителност 48%, специфичност 95%, PPV – 92,3%, NPV – 59,4%, $p=0,008$). Чувствителността на тези показатели, която както се вижда е под 50%, ги прави ненадеждни маркери за оценка на възпалителната активност в клиничната практика.

В нашето проучване ФКП демонстрира най-висока чувствителност за оценка на чревното възпаление както при УК (100 %), така и при БК (100%), а също и най-висока отрицателна предсказваща стойност и при двете заболявания - УК (100%) и БК (100%).

Предимството на ФКП пред CRP по отношение оценката на чревното възпаление не е изненадващо. ФКП отразява директно чревното възпаление и неговата концентрация във фецеса е пряко свързана с миграцията на неутрофили от чревната стена към лумена (58, 254). От друга страна, CRP отразява по-скоро системното възпаление (23). Демонстративни в това отношение са, както резултатите в настоящото изследване, така и резултатите

от първото проведено в тази насока проучване в България на В. Наков и сътр., които показват чувствителност на ФКП от 100% при пациенти с ВЧЗ срещу чувствителност на CRP от само 56,9% (59.3% за БК и 54.8% за УК) (19).

Резултатите от настоящото проучване потвърждават данните за ФКП като полезен, неинвазивен и високочувствителен маркер за оценка на чревното възпаление, както при УК, така и при БК, превъзхождащ конвенционалните лабораторни маркери. Въпреки това, макар и с по-ниска чувствителност, CRP е полезен възпалителен маркер, който все още има място в оценка на интестиналното възпаление при пациенти с ВЧЗ.

5. Съпоставяне на стойностите на ФКП с клинични и ендоскопски индекси на активност на ВЧЗ

През последното десетилетие корелацията между стойностите на ФКП и клиничните, ендоскопските и хистологичните индекси за активност на ВЧЗ провокира особен интерес сред гастроентеролозите. Повечето проучвания до момента описват слаба връзка между ФКП и клиничните индекси (184, 255). Обратно, концентрациите на ФКП корелират добре с ендоскопската и хистологичната активност (224).

В това проучване обаче, ние демонстрираме много добра корелация между индекса на Lichtiger за клинична активност при УК и нивата на ФКП ($r=0,836$). Като възможно обяснение може да се обсъжда липсата на функционална симптоматика при нашите пациенти с УК в ремисия. Решихме да използваме Lichtiger Index в това проучване, понеже е базиран само на клинични параметри, не изисква лабораторни данни, лесен е за употреба и бърз за изчисление.

Данните в литературата показват сигнификантно слаба връзка между ФКП и CDAI (211). Този факт не е изненада, тъй като симптомите при БК може да са свързани с невъзпалителни процеси (напр. фиброзна стриктура). Kosiara и Paradowski установяват корелация между ФКП и индекса на Rachmilewitz, но не и CDAI (256). В нашето проучване, изненадващо, открихме умерена корелация между ФКП и CDAI ($r=0,59$). Най-вероятната причина за това е включването в проучването на последователни пациенти с БК, по-голямата част от които с възпалителен фенотип. Също така при сравнителен анализ нивата на ФКП показаха статистическа значимост спрямо ендоскопската активност при БК ($p<0,001$).

Подобно на наскорошно изследване на Ikeya и сътр.(257), ние определихме като ендоскопска ремисия стойности на UCEIS от 0 или 1, но само ако 1 е резултат от дескриптора съдов рисунок (т.е. неравномерно заличен съдов рисунок). От друга страна, скор 1 по отношение на дескриптора кървене, означава наличие на малко количество кръв на повърхността на мукозата, а скор 1 по отношение на дескриптора ерозии и язви – наличие на малки ерозии. Тези находки със сигурност не отговарят на ендоскопското описание за мукозно оздравяване и именно затова приехме за ремисия UCEIS скор 1, образуван само от съдовия дескриптор. Базирайки се на тази дефиниция, можем да направим заключението, че ендоскопската ремисия определена по UCEIS е почти еквивалентна на EMS 0 или 1, което се приема в множество клинични проучвания като показател за определяне на мукозно оздравяване. В допълнение на това, при пациентите в това изследване, получихме много силна корелация между ендоскопската картина, описана чрез UCEIS и тази, описана чрез EMS ($r=0,922$, $p<0,001$). В следствие на всичко това, можем да

твърдим, че определението ни за мукозно оздравяване по UCEIS системата е много разумно.

Travis и сътр. наскоро докладваха, че информацията за клиничната картина оказва минимално влияние върху ендоскопската оценка, определена посредством UCEIS (258). В настоящето проучване оценихме UCEIS скората в реална клинична обстановка и логично бяхме предварително наясно с цялата клинична информация за всички пациенти с УК. Изводът е, че клиничната информация не е повлияла на ендоскопската ни оценка чрез UCEIS.

Taghvaei и сътр. намират силна корелация между UCEIS и стойностите на ФКП ($r = 0.607$, $p = 0.001$) (259). Стойностите на ФКП на пациентите с UCEIS >1 били значително по-високи, отколкото на пациентите с нормална колоноскопска находка. Въпреки това, изследването не показва директно разликите в нивата на ФКП между пациентите с UCEIS 0 и 1. Друго наскорошно проучване, на Theede (260) демонстрира, че стойностите на ФКП корелират с EMS и UCEIS.

В нашата група пациенти откриваме висока корелация между стойностите на ФКП и на EMS (0,814, $p < 0.001$), а също и между стойностите на ФКП и UCEIS (0.869, $p < 0.001$). Все пак, UCEIS скорът корелира малко по-добре с ФКП, в сравнение с EMS.

В обобщение, ФКП може да бъде използван като алтернатива на ендоскопските скорове и може да бъде приет като директен биомаркер за определяне на интестиналното възпаление и мукозното оздравяване. Той е по-евтин, по-лесен за употреба и неинвазивен в сравнение с колоноскопията.

6. Роля на ФКП за мониториране на терапевтичния отговор

В нашето проучване показваме динамиката на снижаване на ФКП в група от 14 пациенти с УК достигнали пълна ремисия. От фигура 24 се вижда, че това снижаване е силно изразено през първите 4 седмици, след което намалението е по-плавно в следващите 4 седмици. На 8-ма седмица проследените пациенти практически са в клинична ремисия, но както се вижда от графиката, много от тях продължаваха да имат леко повишени стойности на ФКП. При обективизирана клинична и ендоскопска ремисия на 12-та седмица, проследените пациенти имаха референтни или близки до референтните стойности на ФКП.

Сходна е картината и при проследените 15 пациенти с БК в активност на конвенционална терапия. Снижаването на стойностите на ФКП на 8-ма седмица след започване на терапевтичния курс е драстично, но част от болните имаха леко повишени нива на ФКП, докато на 16-тата седмица при достигане на клинична и ендоскопска ремисия, нивата на ФКП са в референтни граници.

В няколко клинични проучвания върху пациенти с БК на различни терапевтични режими, нормализирането нивата на фекалните маркери потвърждава значението им като надежден сурогат за мукозно подобрене и оздравяване (184, 242, 261). Подобни резултати са наблюдавани и при болни с УК. В проучване на de Vos и сътр. инфликсимаб индуцира бързо и значително намаляване на концентрациите на ФКП (262). В наскоро проведено проучване върху 60 пациенти с ВЧЗ (34 с БК, 26 с УК) също се демонстрира нормализиране на ФКП след терапия с инфликсимаб или адалимумаб и по този начин се предсказва стабилна клинична ремисия при повечето пациенти (263). В българската медицинска литература, също са описани отделни случаи на

пациенти с УК, при които стойностите на ФКП намаляват след проведена терапия (19, 208)

При остър тежък УК, ФКП може да предскаже нуждата от колектомия. В проучване на Но и сътр., нивата на ФКП остават значително повишени при пациенти, нуждаещи се от колектомия в сравнение с отговорилите на терапията (264). По подобен начин, Theede и сътр. изследвали през определен период ФКП при 16 пациенти с активен УК, нуждаещи се от високи дози кортикостероиди (265). Въпреки че средните нива на ФКП спаднали значително след 4-я и 27-я ден от лечението, те не са предсказали стабилна клинична ремисия след 12-я месец.

Получените в това проучване резултати не са изненадващи, с оглед на това, че както вече не веднъж беше демонстрирано, ФКП рефлектира адекватно възпалителната активност при пациенти с ВЧЗ. Редуцирането на възпалителния отговор като резултат от проведения терапевтичен курс, рефлектира върху намалените нива на ФКП. ФКП може да бъде използван в ежедневната практика като маркер за проследяване на терапевтичния отговор при пациенти с ВЧЗ.

7. Роля на ФКП при предсказването на релапс при пациенти с ВЧЗ в ремисия

Добре известен е вече фактът, че ФКП е надежден маркер за оценка на активността на чревното възпаление при пациенти с IBD (266), но той изглежда да е и добър маркер за предсказване на релапс при тези болни (185, 205, 214, 267, 268). Първото проучване в тази насока правят Tibble и сътр., които откриват, че повишените стойности на ФКП при пациенти с IBD в клинична ремисия предсказват клиничен релапс, както при УК, така и при БК

(214). Възможността единично измерване на нивата на ФКП да предсказва клиничен релапс при пациенти с ВЧЗ в клинична ремисия е проучено в още няколко изследвания (185, 205, 267-269). Най-новото от тях е на Mooiwer и сътр., които измерват началните стойности на ФКП на пациенти с ВЧЗ с мукозно оздравяване и ги проследяват клинично за малко по-малко от 2 години и установяват, че средното време на настъпване на релапс е 13 месеца, а cut-off стойност на ФКП от 56 mg/kg предлага най-добрата диагностична точност (при 64% чувствителност, 100% специфичност и AUC 0,85) за идентифициране на пациентите, които остават в стабилна ремисия по време на проследяването (270). В нашето проучване получаваме много сходни резултати, но при по-висока чувствителност и по-голям брой релапсирани пациенти (60% срещу само 8% при Mooiwer). Средното време на настъпване на релапс при нашите пациенти е 13,9 месеца (13,8 за УК и 14 за БК), а cut-off стойност на началните стойности на ФКП от 63 $\mu\text{g/g}$ отдиференцира пациентите, които остават в стабилна ремисия за период от 24 месеца с 71 % чувствителност и 69 % специфичност, при AUC 0,76. Чувствителността и специфичността се повишават до 75% при определянето на cut-off за пациентите с УК - 43 $\mu\text{g/g}$ и за БК - 98 $\mu\text{g/g}$. Считаме, че резултатите в нашето проучване са по-достоверни, понеже включихме последователни пациенти с IBD, за разлика от Mooiwer, който включва единствено пациенти с ВЧЗ, насочени за наблюдение чрез колоноскопия, което не може да екстраполира данните му към общата IBD популация.

Средните стойности на ФКП при включване в проучването на релапсиралите по време на проследяването пациенти са статистически значимо по-високи от тези на пациентите, които не релапсират до 24-ия месец ($p=0,006$). Според нас тези пациенти трябва да бъдат проследявани по-често с ФКП, с оглед своевременното предсказване на релапс.

Неинвазивното мониториране на болестната активност изисква многократни изследвания на ФКП през определен период. Много вероятно е серийните измервания да бъдат по-точни, отколкото еднократния тест при прогнозирането на активността на заболяването и резултата от лечението. Данните за изследване на нивата на ФКП през определен период са ограничени (242, 271). В проучване на Roseth, пациент е проследяван последователно от появата на болестта до достигане на ремисия, като нивата на ФКП намалявали в течение на лечението и кореспондирали с клиничното, ендоскопско и хистологично подобрене (242). В наскоро проведено изследване от De Vos et al. (262) се посочва, че за предсказване на релапс при пациенти с УК, стойности от две последователни изследвания на ФКП над 300 mg/kg са по-специфични, отколкото еднократно изследване. В същото проучване почти 80% от пациентите в дълбока ремисия са имали поне едно изследване на ФКП със стойност над 50 mg/kg. Подобно, в нашето проучване 69% от пациентите в стабилна ремисия имаха поне едно изследване на ФКП над 70 µg/g (прието за норма в българската популация от В. Наков и сътр. (19)) по време на проследяването. De Vos et al. предлагат, че серийното изследване на ФКП е по-точно от измерването на ФКП при включване в проследяването и би могло да е от полза за коригирането на терапията при все още безсимптомни пациенти с УК (262).

Резултатите от нашето проучване показват, че неколкократно повишените нива на ФКП прогнозираят ендоскопски рецидив, докато леките, преходни клинични симптоми вероятно нямат връзка с болестта. Въпреки това, пациентите с налична симптоматика и с персистиращо повишен ФКП са тези, които потенциално ще имат най-голяма полза от стриктно проследяване.

Досега са публикувани няколко проучвания по този въпрос, данните от които са в подкрепа на ползата от приложението на ФКП в доказването на

нискостепенното възпаление при пациентите с ВЧЗ по време на ремисия (268, 269, 272). Повишените стойности на ФКП при пациенти в клинична ремисия са асоциирани със сигнификантно повишен риск от релапс на болестта в рамките на 12-месечен период на проследяване (205, 214, 261, 268, 272, 273). Също така, в проучването STORI се показва, че повишеният ФКП предсказва релапс след спиране на лечението с инфликсимаб при пациенти с БК. Louis и сътр. докладват, че концентрации на ФКП над 300 $\mu\text{g/g}$ са независим рисков фактор, асоцииран с релапс на болестта (274). Метаанализ на шест проспективни проучвания, проведен от Мао, показва, че ФКП има средна чувствителност от 78% и средна специфичност от 73% за предсказване на релапс при пациенти с ВЧЗ (275), което е в съответствие с нашите резултати, демонстриращи дори по-висока чувствителност (83%) и специфичност (93%).

Все пак, в някои изследвания се съобщават различия в предсказващите стойности между УК и БК. Избраните cut-off нива във всяко изследване са различни, като варират между 130 и 340 mg/kg (185, 205, 214, 267, 268, 272). В нашето проучване получаваме, че cut-off ниво от 130 $\mu\text{g/g}$ предсказва кои пациенти с ВЧЗ ще релапсират в следващите два месеца от изследването с чувствителност 83% и специфичност 93%; за пациентите с УК cut-off нивото е 90 $\mu\text{g/g}$ (83% чувствителност, 83 % специфичност), а за болните с БК – 155 $\mu\text{g/g}$ (92% чувствителност, 95 % специфичност). Граничните стойности, получени в нашето проучване, са едни от най-ниските в световната литература. Трябва да се има в предвид, обаче, че ние включихме пациенти с клинична и ендоскопска ремисия (де факто мукозно оздравяване), докато повечето други изследвания до момента са включвали пациенти само в клинична ремисия. Получените по-високи гранични стойности при тях биха могли да се дължат на недооценка на активността на заболяването при пациенти, при които не е извършена изходна колоноскопия. Друго възможно обяснение би могло да

бъде използването в нашето проучване на различен тест за изследване на ФКП, въпреки че той има отлична корелация с широко-използваните ELISA тестове и е много по-бърз и удобен за употреба в клиничната практика.

Освен включването само на пациенти с мукозно оздравяване, друго голямо предимство на нашето проучване е двегодишния период на проследяване, който гарантира по-голяма обективност на резултатите. За разлика, повечето проведени до момента изследвания проследяват пациентите с ВЧЗ средно 12 месеца.

García-Sánchez и сътр установяват, че за период от 1 година релапсират 27% от пациентите с БК и 31% от тези с УК (267). Molander и сътр, съобщават за релапсиране при 31% от пациентите при проследяване в продължение на 12 месеца (263). Mooiwer и сътр. при почти 2-годишно проследяване установяват релапс само при 8 % от пациентите; те обаче са изследвали еднократно ФКП при включването в проследяването (270). Прави впечатление, че относително голям брой от проследените от нас през два месеца пациенти (60%) релапсират за периода от две години. От тях 47,5 % релапсират в рамките на първата година от проследяването, а 12,5% - по време на втората. Това логично поставя въпроса, дали пациентите с ВЧЗ не трябва да се проследяват още по често през първата година, например всеки месец.

Именно, определянето на точния интервал, през който трябва да бъдат проследявани с ФКП пациентите с IBD остава трудна за определяне задача. Атанасова и сътр. предлагат пациентите с УК в ремисия да бъдат следени на три месеца с ФКП, но проследените от колектива пациенти са твърде малко – 8 отделни клинични случая без уеднаквен дизайн на следене и следователно не е предложена гранична стойност на ФКП за предсказване на релапс (208). Основното откритие в проучване на Molander и сътр. е, че стойностите на ФКП са повишени още 6 месеца преди настъпването на релапс, като са трайно

високи средно 94 дни преди настъпването на рецидив при релапсиращите болни, докато трайно ниските стойности предсказват във висока степен продължителната ремисия (263). Това показва, че изследване на ФКП на всеки 3 месеца би било достатъчно за улавяне риска от релапс и своевременна терапевтична промяна при половината от пациентите. Обаче, при другата половина от болните, времето между повишението на нивата на ФКП и настъпването на релапса е по-кратко от 3 месеца и тестът трябва да бъде извършван по-често. За съжаление, в ежедневната клинична практика няма как да определим кои точно са пациентите, изискващи по-редовно проследяване с ФКП. Данните от нашето проучване за висока чувствителност (83,3%) и специфичност (93,2%) на cut-off стойност от 130 $\mu\text{g/g}$ за предсказване на релапс в рамките на два месеца от изследването и високия процент на релапсирани през първата година от проследяването (47,5 %), поставят въпроса някои от пациентите с ВЧЗ да бъдат проследявани с ФКП дори по-често от два месеца (напр. ежемесечно).

От друга страна, такова често изследване на ФКП би затруднило пациентите в предоставянето на материал за изследване в клиниката на всяка визита, а също така би натоварило бюджета им. Тези притеснения подчертават важността на проучването на Lasso и сътр., което показва добра възпроизводимост на изследванията на ФКП, извършени от пациента чрез няколкократно вземане на материал от една фекална проба, без предходно хомогенизиране на фецеса (219). Това би могло да позволи на пациента да извърши екстракцията на фекалната проба в дома си и да я изпрати за изследване към лаборатория или към проследяващия го гастроентеролог. Общо взето, Lasso демонстрира, че взимането на проба от пациента в собствения му дом е добре приложимо, а употребата на китове за събиране на фецес е от голяма полза за това (219). Също така, проучването показва, че

стойностите на ФКП намаляват значително, ако изпражненията се съхраняват повече от три дни на стайна температура преди изследването. Това трябва да бъде избягвано и обяснявано на пациентите. Всичко това изтъква големия интерес към развитието на специални софтуерни програми и мобилни приложения, които позволяват на пациента да изследва напълно сам в дома си ФКП и да изпрати резултата на лекуващия го лекар. Първата такава система е IBDoc, която работи със смартфони, използващи операционни системи Android и iOS и показва много добра корелация с Quantum Blue и ELISA тестовете. Счита се, че такъв тип системи биха помогнали за по-честото изследване на ФКП и то от самите пациенти, без да е нужно да посещават болница, което от друга страна ще намали и цената на изследването (276-278).

Накрая, но не на последно място, ако искаме да използваме серийни изследвания на ФКП за контрол на ВЧЗ в рутинната практика и на базата на тях да решаваме терапевтичния подход, трябва да имаме предвид съществуването на неспецифични вариации в нивата на белтъка. В проучване на Lason и сътр., се откриват значителна променливост в няколко фекални проби, събрани в рамките на един ден, а също и в рамките на два последователни дни. Най-често тези вариации засягат нива над използваните гранични стойности за предсказване на мукозно оздравяване и по този начин имат отношение по-скоро към възможността за предсказване на степента на ендоскопската тежест, но не към наличието на ендоскопска активност на болестта. Друго проучване показва ниски вариации в пробите на пациенти с БК в ремисия (279). Обаче, в проучване на Lason, при част от болните с УК има флукутации пресичащи линията, разделяща активно от неактивно заболяване (219). Това би бил недостатък в употребата на ФКП при тези пациенти и би трябвало да мотивира допълнителни изследвания по въпроса. Друг важен аспект е докладваната от Lason вариация в рамките на същия ден.

Концентрациите на ФКП обикновено се увеличават с времевия интервал между събирането на пробите (219). Обяснението за това е, че калпротектинът, отделен от възпалената лигавица, има тенденция да се натрупва в изпражненията, когато престояват по-дълго в червото. Поради тази причина, проба за изследване на ФКП трябва да се взима от първото изхождане сутрин, както постъпихме и в нашето проучване.

Коректно е да отбележим и две ограничения в тази част от нашето проучване. Първо, при проследените за настъпване на релапс в рамките на две години, 20 пациенти с УК и 20 с БК, не разредихме допълнително с екстракционен буфер пробите със стойности на ФКП над 300 $\mu\text{g/g}$, за да определим точната стойност на белтъка. Това, разбира се, би променило до някаква степен получените в проучването гранични стойности за настъпване на релапс, но разликите не биха били сигнификантни. И второ, не изследвахме ФКП на всеки месец при проследените пациенти, което би могло да ни даде още по-точна представа за оптималната стратегия на проследяване на пациентите с ВЧЗ. Липсата на достатъчно финансиране на проучването беше основната причина, споменатите съображения да не бъдат взети в предвид в нашите изследвания.

8. Роля на TFF3 при оценка на чревното възпаление при пациенти с ВЧЗ

Базирайки се на обстойна литературна справка, можем да твърдим, че това е едно от първите проучвания в световен мащаб, оценяващо клиничния потенциал на TFF 3 при пациенти с ВЧЗ. Резултатите демонстрират, че пациентите с активен УК имат сигнификантно по-високи стойности на TFF 3, в сравнение с всички други пациенти с ВЧЗ. Освен това, пациентите с активен УК имат значимо по-високи стойности на TFF3, отколкото пациентите с

активна БК. Това не е изненадващо, тъй като при УК, лигавичният епител е винаги засегнат, интестиналната бариера е увредена и възпалителният процес засяга мукозата и повърхностната субмукоза (14). От друга страна, при БК лигавичните дефекти са сегментни, а възпалението е трансмурално (14). Вероятно поради тези причини, въпреки наличието на пациенти с БК с повишени стойности на TFF3, средните нива на TFF3 при болните с активна БК не се различават значително от тези на контролната група. Всички тези данни потвърждават хипотезата, че стойностите на TFF3 са свързани с мукозното възпаление и се повишават при наличието на лигавична увреда.

От откриването на TFF преди 30 години до днес са проведени немалко проучвания на опитни животни и *in vitro*, документиращи важната роля на трефойл факторните пептиди в епителната реституция на червата. Въпреки това, малко са изследванията, оценяващи клиничния потенциал на TFF при пациенти с IBD.

Vestergaard и сътр. не откриват значителни изменения на TFF3 при трима пациенти с УК, които се подобрили клинично в следствие на лечение с ГКС (33). Grønbaek и сътр. описват значително повишени средни концентрации на TFF1, TFF2 и TFF3 при пациенти с ВЧЗ, в сравнение със здрави контроли (35). При пациенти с УК, те докладват корелация между концентрациите на TFF3 с клиничните и биохимичните параметри на активност на заболяването (35). В допълнение, след лечение с ГКС, заедно с клиничното подобрене, авторите наблюдават тенденция към намаляване на концентрациите на TFF3 (35). В това проучване авторският колектив описва големи интра-индивидуални различия по отношение количественото измерване на пептидите, което според Grønbaek и сътр. е недостатък при приложението на TFF като биомаркер. В

изследването, обаче, не е оценена ендоскопската активност на заболяването по отношение на промените в нивата на TFF3.

В настоящето проучване, забелязахме, че средните нива на TFF3 при пациенти с УК в активност са сигнификантно по-високи от тези на пациенти с УК в ремисия, които са близки до тези на контролите. Това внушава, че TFF3 може да бъде използван за идентифициране на пациенти с УК в ремисия и евентуално пациенти с мукозно оздравяване. В наскоро публикувано проучване, Srivastava и сътр. показват, че серумния TFF3 би могъл да посочи пациентите с лигавично оздравяване в група от пациенти с УК в клинична ремисия или с лека активност с добра чувствителност и специфичност (280). В това изследване авторите не описват големи интра-индивидуални вариации в измерването на пептида. Те правят заключението, че серумният TFF3 може да се използва като сурогатен маркер за ендоскопска ремисия и МО при пациенти с УК (280).

Много неинвазивни биомаркери за оценка и мониториране на интестиналното възпаление при пациенти с ВЧЗ са дискутирани през последните няколко десетилетия. Определено, най-чувствителния и най-силно наложилия се от тях е ФКП. До момента в световната литература стойностите на ФКП не са съпоставяни с тези на TFF3.

Сравняването на стойностите на ФКП и TFF3 показва умерена корелация при пациентите с УК (както при тези в активност, така и при тези в ремисия), но не и при тези с БК и здравите контроли. Това не е изненадващо, имайки в предвид, че TFF3 е по-скоро маркер за мукозна увреда, която би могла да настъпи вследствие на възпалителен процес, а не е маркер за възпаление. Взимайки под внимание факта, че средните стойности на TFF3 на пациентите с активен УК са статистически значимо по-високи от тези на УК в ремисия и

наличната корелация със стойностите на ФКП при болните с УК, получените данни са обнадеждаващи по отношение на отдиференцирането на пациентите с активен УК от тези в ремисия. TFF3, също така има потенциала да бъде използван и като маркер за мукозно оздравяване при пациенти с УК.

Липсата на корелация между стойностите на ФКП и TFF3 при пациентите с БК и липсата на статистическа значимост между стойностите на болни с БК и здравите контроли поставя под въпрос ролята на TFF3 при тези пациенти.

Още проучвания са необходими за доказване ролята на TFF3 като маркер на чревното възпаление при IBD. Също така, серийното измерване на TFF3 би било по-полезно по отношение проследяването на клиничната и ендоскопската активност.

9. Роля на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и възможността ѝ за предсказване на релапс

Получените резултати не потвърждават ползата от УХЕ при оценка на възпалителната активност при пациентите с УК и не са обнадеждаващи по отношение на способността на УХЕ да предсказва релапс при пациенти с УК в ремисия.

През последното десетилетие различни автори са се опитвали да установят приложението на УХЕ при пациенти с УК в практиката. Най-много доказателства към момента за метода са натрупани по отношение възможността за установяване наличието на дисплазия и колоректален карцином при пациенти с дългогодишен УК (98, 281). Съществуват проучвания, показващи способността на УХЕ да оценява възпалителната активност, както при пациенти с неактивен, така и при такива с активен УК, а

освен това използването на видеоколоноскоп с висока резолюция улеснява разграничаването на възпалената от нормалната лигавица (245, 281-283). По този начин Кийслих демонстрира, например, как хромоендоскопията с метиленово синьо позволява по-точна диагноза на разпространеността и тежестта на възпалителната активност при УК, сравнено с конвенционалната колоноскопия (98).

През последните няколко години особен интерес буди хипотезата, че УХЕ би могла да идентифицира точно хистологичното възпаление и да предскаже релапс при пациенти с УК. Това би бил много ценен, прост и практически полезен метод, който потенциално би могъл да усъвършенства поведението при пациенти с УК и да бъде точен ориентир за оценка на лигавичното оздравяване в контекста на клиничните проучвания.

Nishio и сътр. (225) в проспективно проучване оценяват криптовия рисунък на ректалната лигавица на 113 пациенти с УК в ремисия, използвайки увеличителна ендоскопия с метиленово синьо като метод за предсказване на релапс. Те класифицират криптовия рисунък в 4 степени в зависимост от размера, формата и подредбата на отворите. Положителна връзка е установена между степените на увеличителна ендоскопия и хистологичното възпаление и е демонстрирано, че ендоскопската класификация е предиктор на релапса (225). Установено е, че честотата на релапса расте с увеличаването на степента на УЕ - 0% за степен 1, 21% за степен 2, 43% за степен 3 и 60% за степен 4 (225). Други проучвания показват, че хромоендоскопията със или без увеличение е по-точна от конвенционалната ендоскопия за оценка на разпространеността и степента на лигавичните изменения при пациенти с УК (98). В 12-месечно проследяване на пациенти с УК в ремисия, Watanabe и сътр. докладват, че пациентите с нормален увеличителен ендоскопски образ релапсират сигнификантно по-малко в сравнение с тези с изменения (284).

Същият извод е направен и при други подобни проследявания (147, 225). В контраст на тези открития, други автори отричат ролята на УХЕ в предсказването на релапс в период от 12 месеца при пациенти с УК в ремисия (285). Те показват, че седемнадесет (27%) от 64 пациенти с УК в дълбока ремисия релапсират по време на проследяване. Също така, криптовият рисунок не се различава между релапсиралите и нерелапсиралите болни ($p = 0.69$), а стойностите на ФКП не корелират със степените на криптовия рисунок по Nishio ($r=0.88$). Предварителни проучвания сочат, че друга нова ендоскопска техника – конфокалната ендомикроскопия може да бъде още по-точна за предсказването на релапс при пациенти с УК (286).

В нашето проучване се установи, че стойностите на ФКП и на конвенционалните лабораторни показатели за възпаление (СУЕ, СРР, левкоцити, тромбоцити, хемоглобин) не се различават значително при различните степени на криптовия рисунок, определени чрез УХЕ с 0,05 % кристал виолет. В допълнение на това, УХЕ не корелира с почти всички хистологичните характеристики, с изключение на архитектурата на криптите. Оценката на криптовия рисунок чрез УХЕ представлява описание на размера, формата и подредеността на отворите на криптите на повърхността на дебелочревната лигавица, но не и в нейната дълбочина. Именно затова корелацията с хистологичното описание на архитектурата на криптите не е изненадваща, както обаче не е изненадващо че корелацията не е много силна. Освен това, нарушаването на криптовата архитектура е хистологичен показател за неактивна хронична болест.

Интересно е, че от проследените до момента пациенти, всички релапсирали са с криптов рисунок тип С и представляват 50% от пациентите с тип С. Поради факта, че част от пациентите все още са в период на

проследяване, както и поради малкия брой изследвани с УХЕ пациенти, считаме, че са необходими допълнителни проучвания в тази област.

В обобщение, поради липсата на връзка между степените на УХЕ с хистологичните показатели и със стойностите на ФКП, както и поради определени специфики в извършването на УХЕ (инвазивност, времеемкост, изисквания за допълнителни консумативи), не препоръчваме този метод за оценка на възпалителната активност и предсказване на релапса при пациенти с УК в ремисия.

Считаме, че ФКП остава най-надеждния, неинвазивен и най-лесен метод за проследяване на болестната активност при пациенти с ВЧЗ. В тази част от проучването ни сравнихме стойностите на ФКП с редица хистологични характеристики при пациенти с УК и установихме слаба корелация с хроничния възпалително-клетъчен инфилтрат ($r=0,597$, $p=0,009$), архитектурата на криптите ($r=0,532$, $p=0,023$), базално-клетъчната инфилтрация ($r=0,639$, $p=0,004$) и еозинофилната инфилтрация в ламина проприя ($r=0,468$, $p=0,049$). Не намираме корелация между нивата на ФКП и хистологичните показатели за остро възпаление по класификацията на Riley (остър възпалително-клетъчен инфилтрат, изчерпване на муцина, крипт абцеси), хистологичните характеристики по Matts и наличието на нарушена епителна повърхност. Липсата на връзка или наличието на слаба корелация между стойностите на ФКП с хистологичните показатели в настоящето проучване контрастира с други изследвания (184, 220). Като най-вероятни причини приемаме фактите, че при нито един от нашите пациенти не бяха налице ендоскопски изменения и че малка част от болните имаха хистологични белези за остро възпаление. В по-нови проучвания са описани подобни на нашите резултати (270, 285).

ОПТИМАЛНА СТРАТЕГИЯ ЗА ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ПАЦИЕНТИТЕ С ВЧЗ. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВЧЗ са социално значими заболявания, протичащи с редуване на релапси и ремисии. Честите релапси не само влошават качеството на живот и социалната активност на пациентите, но са свързани и с повишена честота на локални и системни усложнения, някои от които са животозастрашаващи. Затова стриктното мониториране на тежестта на интестиналното възпаление е от изключително значение, за да се оцени точно ефективността на провежданото лечение, да се изключат усложнения и да се предотврати прогресирането на заболяването.

С оглед на всички получени в това проучване резултати считаме, че ФКП остава най-надеждния, неинвазивен и най-лесен метод за проследяване активността при пациенти с ВЧЗ. Той превъзхожда в значителна степен конвенционалните лабораторни маркери за възпаление, серумния TFF-3 и увеличителната хромоендоскопия. В допълнение на това, показва умерена към силна корелация с клиничната и много силна корелация с ендоскопската активност. Клиничната активност не може да бъде използвана за проследяване на активността на болните с ВЧЗ, тъй като при наличието на изразена симптоматика, пациентите вече са релапсирали. От друга страна, редовното извършване на ендоскопии е инвазивно, скъпо и неприятно за пациента, а тънъкочревната локализация при част от пациентите с БК трудно може да бъде оценена ендоскопски. Освен това, негативната ендоскопия не означава, че при пациенти с бързо повишаване на ФКП няма да настъпи релапс.

Неинвазивното мониториране на болестната активност изисква многократни изследвания на ФКП през определен период, като определянето

на точния интервал, през който трябва да бъдат проследявани пациентите с IBD остава трудна за определяне задача.

Определено, серийните измервания на ФКП са по-точни, отколкото еднократния тест при прогнозирането на хода на заболяването и резултата от лечението. Въпреки това, стойностите на ФКП при включване в проследяване на пациенти с ВЧЗ биха могли да ни дадат ориентир за потенциалната възможност за настъпване на релапс. Получаваме, че начални стойности на ФКП под $63 \mu\text{g/g}$ определят пациентите, оставащи в стабилна ремисия за период от 24 месеца с 71 % чувствителност и 69 % специфичност, при AUC 0,76. Чувствителността и специфичността нарастват до 75% при определянето на cut-off за пациентите с УК ($43 \mu\text{g/g}$) и БК ($98 \mu\text{g/g}$).

Прави впечатление, че голям процент от проследените в нашето изследване пациенти релапсират по време на двугодишно проследяване (60%), като по-голямата част от тях релапсират още през първите 12 месеца (47,5%). Средното време на настъпване на релапса е 38 дни от последната визита за изследване на ФКП. Също така демонстрирахме, че по-младата възраст и по-кратката продължителност на заболяването са свързани с по-често релапсирание и по-висок риск от релапс, както при пациенти с УК, така и при тези с БК. Бинарната логистична регресия за количествено оценяване на факторите, влияещи на релапса категорично показва, че факторът с най-голяма тежест е ФКП. Той същевременно е и най-динамичния фактор на проследяване. Всяко повишаване на ФКП с единица води до увеличаване на риска от релапс с 1,027 пъти. Следователно повишаване на този фактор с 37 пункта над предходния означава 2 пъти по-висок риск от релапсирание в последващия период. Вторият по значимост фактор е продължителността на заболяването. Всяко увеличаване на този показател с 1 година води до по-нисък риск от релапс с 26

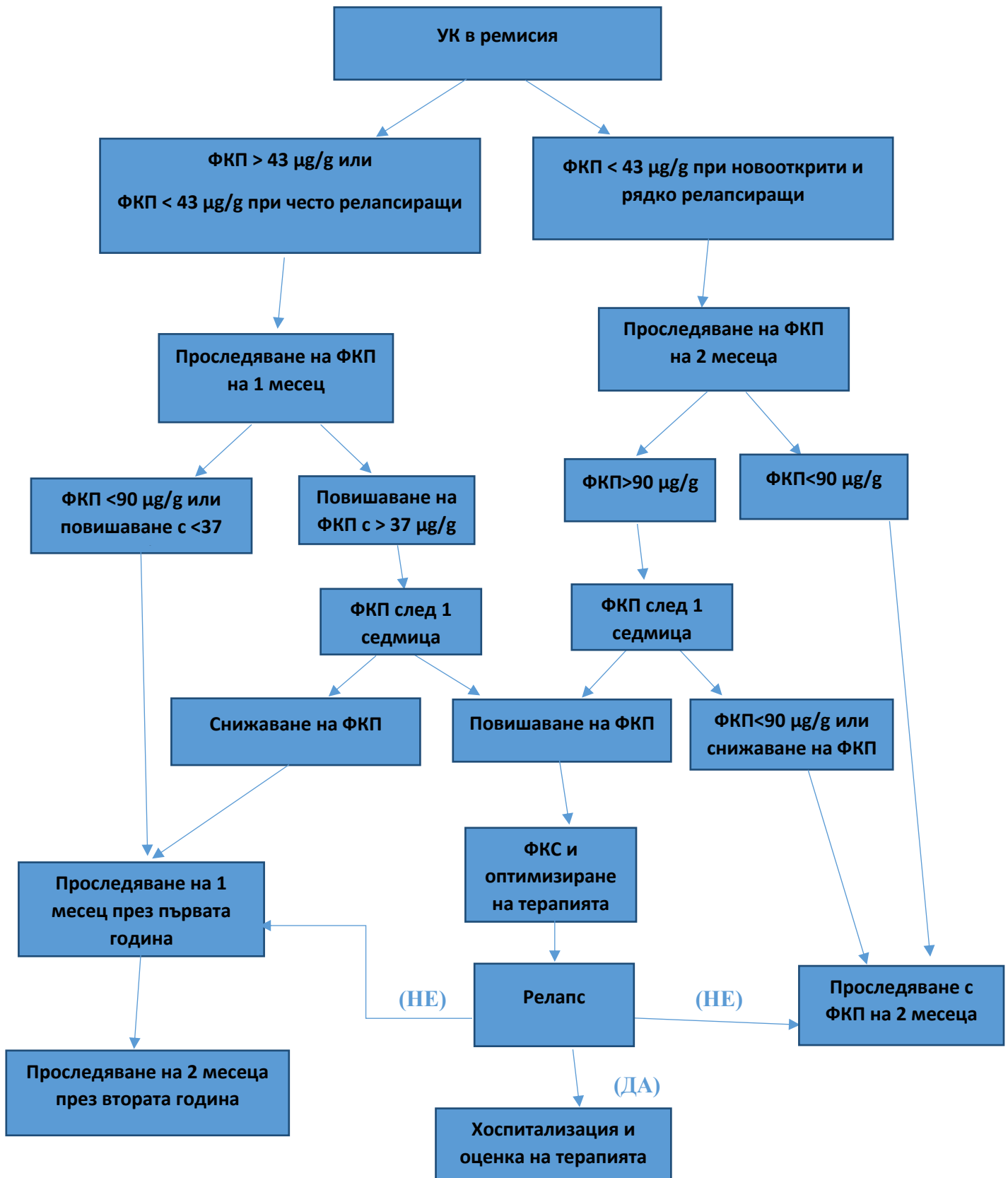
% при БК и 32.7% при УК. Факторът с най-малка значимост е възрастта на пациента. Всяко увеличаване на възрастта с 1 година намалява риска от релапс 1.036 пъти. Тъй като това е най-статичния показател, влияние върху риска се очаква при значителната му промяна (например пациент на възраст 70 години ще има два пъти по-нисък риск от релапс спрямо пациент на 40 г.)

На базата на горните данни считаме, че пациентите с по-високи стойности на ФКП при включване в проследяване и особено често релапсиращи с по-кратка продължителност на заболяването (независимо от началната стойност на ФКП), трябва да бъдат проследявани на по-кратък от два месеца интервал (напр. ежемесечно) с ФКП през първата година от проследяването, а новооткрити и рядко релапсиращи пациенти с по-ниски начални стойности и евентуално по-дълга продължителност на заболяването - на всеки два месеца през първата година от проследяването. Възрастта на пациента би трябвало да не е основен, а спомагащ фактор при определяне на оптималната стратегия за проследяване (**Фигури 40 и 41**).

Установихме, че стойности на ФКП над 90 $\mu\text{g/g}$ могат да предскажат кои пациентите с УК ще релапсират в рамките на следващите два месеца от проследяването с 83% чувствителност и 83% специфичност. За пациентите с БК граничната стойност е 155 $\mu\text{g/g}$ (92% чувствителност, 95 % специфичност). Считаме, че при установяване на по-високи от граничните стойности на ФКП по време на периода на проследяване или при повишаване на стойностите на ФКП с над 37 пункта спрямо предходните, пациентите трябва да бъдат контролирани с ФКП отново след 1 седмица. При снижаване на стойностите проследяването продължава по предложената схема. При ново повишаване на ФКП пациентите трябва да бъдат насочени към колоноскопия и евентуално да бъде обсъдено коригиране на терапевтичната стратегия. По този начин е

възможно настъпването на релапс да бъде предотвратено и тогава проследяването с ФКП трябва да продължи по установената схема. При настъпване на релапс, въпреки променената терапия, пациентите е нужно да бъдат хоспитализирани и терапевтичната стратегия да бъде допълнително преоценена.

При липса на повишаване на стойностите на ФКП над граничните, проследяването трябва да продължи по установената схема. Следените на един месец пациенти през първата година от проследяването, при липса на стойности на ФКП над граничните, поради рязкото намаляване на риска от релапс, могат да започнат да бъдат следени с ФКП на два месеца през втората година.



Фигура 37. Оптимална стратегия за проследяване на пациентите с улцерозен колит (УК).



Фигура 38. Оптимална стратегия за проследяване на пациентите с болест на Крон (БК).

ИЗВОДИ

1. По-младата възраст и по-малката давност на ВЧЗ (УК и БК) са свързани с по-висок риск от релапс и по-често релапсиране
2. ФКП е лесен и удобен маркер за отдиференциране на ремисия от активност при ВЧЗ. Стойности от 315 $\mu\text{g/g}$ разграничават пациенти с БК в ремисия или в активност, независимо от локализацията на болестта.
3. ФКП превъзхожда значително конвенционалните лабораторни маркери в оценката на интестиналното възпаление. Независимо от по-ниска чувствителност, CRP също е полезен маркер за оценката на възпалителния процес при ВЧЗ.
4. Пациентите с БК в ремисия след ДХК имат значимо по-високи стойности на ФКП от пациентите в медикаментозно постигната ремисия, което доказва персистиране на интестиналното възпаление след хирургичната резекция.
5. Поради много добрата корелация с клиничните (Lichtiger, CDAI) и ендоскопските индекси за активност, ФКП може да се използва като алтернатива на ендоскопските индекси и директен биомаркер за определяне на интестиналното възпаление и мукозното оздравяване.
6. ФКП е лесен и удобен маркер за проследяване терапевтичния отговор при пациентите с ВЧЗ.
7. Гранични стойности на ФКП от 43 $\mu\text{g/g}$ при УК и 98 $\mu\text{g/g}$ при БК при включване в проследяване може да отдиференцират пациентите, които ще останат в ремисия за период от 24 месеца. Всяко повишение на стойностите с единица повишава риска от релапс с 1,027 пъти.

8. Гранични стойности на ФКП от 90 $\mu\text{g/g}$ при УК и 155 $\mu\text{g/g}$ при БК може да предскажат кои пациентите ще релапсират в следващите два месеца.
9. Серумните стойности на TFF3 корелират добре със стойностите на ФКП при УК и може да идентифицират пациентите с активност.
10. Увеличителната хромоендоскопия не е подходящ метод за оценка на възпалителната активност и предсказване на релапса при пациенти с УК в ремисия.

ПРИНОСИ

Приноси с научно-теоретичен характер

1. Оценени са факторите, повлияващи честотата на релапсиране при пациенти с ВЧЗ.
2. Оценена е ролята на ФКП, изследван с имунохроматографския метод Quantum Blue, за определяне на ремисия, активност и мукозно оздравяване при пациенти с ВЧЗ.
3. За първи път в страната са определени стойностите на ФКП при пациенти с БК в ремисия след десностранна хемиколектомия.
4. Проучена е връзката между стойностите на ФКП и клиничните и ендоскопски индекси на активност (CDAI, Lichtiger Clinical Activity Index, UCEIS, EMS).
5. Извършена е едно от първите описания в медицинската литература за ролята на серумния TFF3 при пациенти с ВЧЗ. За първи път са сравнени стойностите на TFF3 с ФКП.
6. За първи път в България и сред първите в Европа е проучена диагностичната и прогностична стойност на увеличителната хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия и връзката между нейните степени, стойностите на ФКП и хистологичната активност.

Приноси с потвърдителен характер

1. Диагностичната стойност на ФКП, изследван с имунохроматографския метод Quantum Blue, е потвърдена в едно от първите проучвания на голяма кохорта пациенти с ВЧЗ.

2. Потвърдено е превъзходството на ФКП над конвенционалните лабораторни маркери за активност (CRP, СУЕ, левкоцити, тромбоцити, фибриноген) при пациенти с ВЧЗ.
3. Потвърдена е ролята на ФКП в проследяване на терапевтичния ефект при пациенти с ВЧЗ.

Приноси с научно-приложен характер

1. За първи път в страната е въведено използването на Lichtiger Clinical Activity Index и UCEIS при пациенти с УК
2. Проведено е едно от малкото дългосрочни (двугодишно) проследявания на пациенти с ВЧЗ чрез серийно (на два месеца) изследване на ФКП. Установени са граничните стойности на ФКП при включване в проследяването, предсказващи по-голямата вероятност от настъпване на релапс в рамките на 2 години, а също така и граничните стойности на ФКП, предсказващи настъпване на релапс в рамките на следващите два месеца от последната визита (при УК, БК и общо за ВЧЗ).
3. Предложена е оптимална стратегия за проследяване на пациентите с ВЧЗ.
4. Апробиран и верифициран е метод за изследване на серумен TFF3.
5. Въведен е метод за извършване на увеличителна хромоендоскопия при пациенти с УК в ремисия.

ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации във връзка с дисертационния труд

1. **Наков Р**, Velikova T, Nakov V, Gerova V, Tankova L, Toumangelova-Yuzeir K, Krasimirova E, Ivanova-Todorova E, Kundurzhiev T, Kyurkchiev D. Serum trefoil factor 3 – a promising biomarker in patients with inflammatory bowel disease. *Compt rend Acad Bulg Sci*. 2016; 69 (12): 1669-1674 [Impact factor: 0.233].
2. **Наков Р**, Герова В. Проследяване на чревното възпаление при пациенти с възпалителни чревни заболявания посредством изследване на фекален калпротектин. *Българска хепатогастроентерология*. 2016; 17(2):51-55.
3. **Наков Р**, Великова Цв. Патогенеза на хроничните възпалителни чревни заболявания. *Медицински преглед*. 2016; 52(2):22-28.
4. Наков В, Владимирова Б, Пенчев П, Шишенков М, **Наков Р**, Кундуржиев Т. Стойности на фекалният калпротектин при пациенти с болест на Крон в зависимост от разпространеността и протичането на болестта. *Българска хепатогастроентерология*. 2014;16(2):46-49.

Участия в научни форуми във връзка с дисертационния труд

1. Tankova L, Churchev S, Getsov P, Penchev P, **Наков Р**, Gerova V, Vladimirov B. Methods for evaluation of perianalfistulizing Crohn's disease – clinical case presentation. Poster № 86. Falk Symposium 196: Critical Evaluation of Current Concepts and Moving to New Horizons in the Management of IBD. 6-7 March 2015, Frankfurt, Germany

2. **Наков Р**, Наков В, Танкова Л, Герова В. Фекален калпротектин – надежден и перспективен биомаркер за проследяване на пациент с УК в ремисия: клиничен случай. Устна презентация. Първи национален конгрес за млади гастроентеролози, 27-28 март 2015, ИСУЛ, София
3. Топузанска Н, Танкова Л, Герова В, Гецов П, Владимиров Б, Чурчев С, **Наков Р**, Наков В. Карцином на сигмата при пациент с първичен склерозиращ холангит и дългогодишен улцерозен колит. Устна презентация. Втори национален конгрес за млади гастроентеролози, УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“, София, 25-26.03.2016.
4. **Nakov R**, Nakov V, Penchev P, Tankova L, Gerova V, Kundurzhiev T. Correlation between Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity, Lichtiger Index and fecal calprotectin in ulcerative colitis patients. Poster № 66. Falk Symposium 205:New Treatment Targets in Gut and Liver Diseases, 21-22 October 2016, Lucerne, Switzerland
5. Gerova V, Nakov V, Tankova L, Penchev P, **Nakov R**. Prevalance and antibiotic treatment of small intestinal bacterial overgrowth in patients with Crohn’s disease. Poster № 36. Falk Symposium 205:New Treatment Targets in Gut and Liver Diseases, 21-22 October 2016, Lucerne, Switzerland

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, Caprilli R, Colombel JF, Gasche C, Geboes K, Jewell DP, Karban A, Loftus EV Jr, Peña AS, Riddell RH, Sachar DB, Schreiber S, Steinhart AH, Targan SR, Vermeire S, Warren BF. 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. *Can J Gastroenterol*. 2005 Sep;19 Suppl A:5A-36A.
2. Коцев И. Съвременна класификация и индекси за оценка на възпалителните чревни заболявания, доклад, Национална научна конференция 2013, 3-5.10.2013, Пловдив.
3. Диагностичен и терапевтичен алгоритъм (консенсус) на Българско научно дружество по гастроентерология. Хронични възпалителни заболявания на червата – улцерозен колит и болест на Крон. - Българска хепатогastroентерология, 2010;13(2):47-55.
4. Loftus EV, Jr., Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology clinics of North America*. 2002 Mar;31(1):1-20.
5. Великова Ц. Проучване на имунологични параметри, характеризиращи чревното възпаление, с оглед внедряване на нови показатели за диагноза и следене на клиничния ход при хронични възпалителни чревни заболявания. [Дисертация]. София: Медицински университет – София; 2014.
6. Атанасова А. Хронични възпалителни заболявания на червата-поглед от XXI век (съвременни аспекти). Варна: ИК "Стено"; 2015.

7. Chung H, Kasper DL. Microbiota-stimulated immune mechanisms to maintain gut homeostasis. *Current opinion in immunology*. 2010;22(4):455-460.
8. Hisamatsu T, Kanai T, Mikami Y, Yoneno K, Matsuoka K, Hibi T. Immune aspects of the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Pharmacology & therapeutics*. 2013 Mar;137(3):283-297.
9. Герова В. Проучване на интестиналния пермеабилитет при някои гастроентерологични заболявания [Дисертация]. София: Медицински университет – София; 2008.
10. Smith KM, Eaton AD, Finlayson LM, Garside P. Oral tolerance. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000 Oct;162(4 Pt 2):S175-178.
11. Montilla NA, Blas MP, Santalla ML, Villa JMM. Mucosal immune system: A brief review. *Immunologia*. 2004;23(2):207-216.
12. Otte J, Rosenberg I, Podolsky D. Intestinal myofibroblasts in innate immune responses of the intestine. *Gastroenterology*. 2003;124(7):1866-1878.
13. Pang G, Couch L, Batey R, Clancy R, Cripps A. GM-CSF, IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6, IL-8, IL-10, ICAM-1 and VCAM-1 gene expression and cytokine production in human duodenal fibroblasts stimulated with lipopolysaccharide, IL-1 alpha and TNF-alpha. *Clin Exp Immunol*. 1994;96(3):437-443.
14. Friedman S, Blumberg RS. Inflammatory Bowel Disease. In: Longo DLF, Anthony S, editors. *Harrison's Gastroenterology and Hepatology*. 2nd ed. New York. McGraw Hill Medical; 2015.
15. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clinic proceedings*. 2006 Nov;81(11):1462-1471.
16. McDonald T. *Immunology and Diseases of the Gut* 2006.

17. Fournier B, Parkos C. The role of neutrophils during intestinal inflammation. - *Mucosal immunology*. 2012;5(4):354-366.
18. Andoh A, Bamba S, Brittan M, Fujiyama Y, Wright NA. Role of intestinal subepithelial myofibroblasts in inflammation and regenerative response in the gut. *Pharmacology & therapeutics*. 2007. 114 (1):94-106.
19. Наков В. Фекален калпротектин - неинвазивен маркер за оценка на чревното възпаление [Дисертация]. София: Медицински университет – София; 2011.
20. Milner JD, Sandler NG, Douek DC. Th17 cells, Job's syndrome and HIV: opportunities for bacterial and fungal infections. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2010 Mar;5(2):179-183.
21. Pinchuk I, Mifflin R, Saada J, Powell D. Intestinal mesenchymal cells. *Curr Gastroenterol Rep*. 2010;12(5):310-318.
22. Герова В, Свинаров Д, Стойнов С, Кацаров Д. Нарушения в интестиналния пермеабилитет на йохексол при пациенти с улцерозен колит. *Българска хепатогастроентерология*. 2009;9(1):30-34.
23. Langhorst J, Elsenbruch S, Koelzer J, Rueffer A, Michalsen A, Dobos GJ. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN elastase, CRP, and clinical indices. *Am J Gastroenterol* 2008;103(1):162–9.
24. Podolsky DK, Lynch Devaney K, Stow JL, Oates P, Murgue B, DeBeaumont M, Sands BE, Mahida YR. Identification of human intestinal trefoil factor. Goblet cell-specific expression of a peptide targeted for apical secretion. *J Biol Chem* 1993;268:6694–702.
25. Hoffmann W, Jagla W, Wiede A. Molecular medicine of TFF-peptides: from gut to brain. *Histol Histopathol* 2001; 16(1):319-334.

26. Tomasetto C, Rio MC, Gautier C, Wolf C, Hareuveni M, Chambon P, Lathe R. hSP, the domain-duplicated homolog of pS2 protein, is co-expressed with pS2 in stomach but not in breast carcinoma. *EMBO J* 1990; 9 (2):407-414.
27. Wright NA, Poulsom R, Stamp G, Van Norden S, Sarraf, C, Elia G, Ahnen D, Jeffery R, Longcroft J, Pike C. Trefoil peptide gene expression in gastrointestinal epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1992; 193:76-82.
28. Rio MC, Chenard MP, Wolf C, Marcellin L, Tomasetto C, Lathe R, Bellocq JP, Chambon P. Induction of pS2 and hSP genes as markers of mucosal ulceration of the digestive tract. *Gastroenterology* 1991; 100:375-379.
29. Jørgensen KH, Thim L, Jacobsen HE. Pancreatic spasmolytic polypeptide (PSP): I. Preparation and initial chemical characterization of a new polypeptide from porcine pancreas. *Regul Pept* 1982; 3:207-219.
30. Masiakowski P, Breathnach R, Bloch J, Gannon F, Krust A, Chambon P. Cloning of cDNA sequences of hormoneregulated genes from the MCF-7 human breast cancer cell line. *Nucleic Acids Res* 1982; 10:7895-7903.
31. Suemori S, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Identification and characterization of rat intestinal trefoil factor: tissue- and cell-specific member of the trefoil protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(24): 11017-11021.
32. Samson MH. Quantitative measurements of trefoil factor family peptides: possibilities and pitfalls. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 73:193-202.
33. Vestergaard EM, Poulsen SS, Grønbaek H, Larsen R, Nielsen AM, Ejksjaer K, Clausen JT, Thim L, Nexø E. Development and evaluation of an ELISA for human trefoil factor 3. *Clin Chem* 2002; 48(10):1689-1695.
34. Vestergaard EM, Brynskov J, Ejksjaer K, Clausen JT, Thim L, Nexø E, Poulsen SS. Immunoassays of human trefoil factors 1 and 2: measured on

- serum from patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Clin Lab Invest* 2004; 64:146-156.
35. Grønbaek H, Vestergaard EM, Hey H, Nielsen JN, Nexø E. Serum trefoil factors in patients with inflammatory bowel disease. *Digestion* 2006; 74(1):33-39.
 36. Swidsinski A, Baucke VL, Theissig F, et al. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Gut*. 2007;56(3):343–350.
 37. Devkota S, Wang Y, Musch MW, et al. Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in *Il10*^{-/-} mice. *Nature*. 2012;487(7405):104-108.
 38. von Mutius E. Allergies, infections and the hygiene hypothesis--the epidemiological evidence. - *Immunobiology*. 2007;212(6):433-439.
 39. Olszak T, An D, Zeissig S, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. - *Science (New York, NY)*. 2012 Apr 27;336(6080):489-493.
 40. Панова Д, Спасова З, Николов Р, Дереджан С. Здравно-обуславно качество на живот и клинична активност при пациенти с хронична възпалителна болест на червата. *БХГЕ*. 2010;1:34-39.
 41. Liverani E, Scaioli E, Digby RJ, Bellanova M, Belluzzi A. How to predict clinical relapse in inflammatory bowel disease patients. *World J Gastroenterol*. 2016;22(3):1017-33.
 42. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474(7351):307-317.
 43. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, et al. Genetics of the innate immune response in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2007 Mar;13(3):338-355.

44. Noomen CG, Hommes DW, Fidder HH. Update on genetics in inflammatory disease. *Best practice & research.* 2009;23(2):233-243.
45. Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Geary R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfertheiner, Ouyang Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the diagnosis and management of IBD in 2010. *InflammBowelDis.* 2010; 16(1):112–24.
46. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, Burisch J, Gecse KB, Hart AL, Hindryckx P, Langner C, Limdi JK, Pellino G, Zagórowicz E, Raine T, Harbord M, Rieder F. Third European Evidence-Based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J Crohns Colitis.* 2017 Feb 2. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjx008. [Epub ahead of print]
47. Gomollón F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay J, Peyrin-Biroulet L, Cullen GJ, Daperno M, Kucharzik T, Rieder F, Almer S, Armuzzi A, Harbord M, Langhorst J, Sans M, Chowers Y, Fiorino G, Juillerat P, Mantzaris G, Rizzello F, Vavricka S, Gionchetti P. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *J Crohns Colitis.* 2017 Jan;11(1):3-25.
48. D'Haens G, Sandborn WJ, Feagan BG, Geboes K, Hanauer SB, Irvine EJ, Lémann M, Marteau P, Rutgeerts P, Schölmerich J, Sutherland LR. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2007; 132(2):763–86.

49. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol.* 2010; 105: 501–23.
50. Carter MJ, Lobo AJ, Travis SPL. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut.* 2004; 53: v1–16.
51. Rutegard I, Ahsgren L, Stenling R, Nilsson T. A simple index for assessment of disease activity in patients with ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology.* 1990; 37(Suppl. 2): 110–2.
52. Campieri M, Fergusonj A, Doe W, et al. Oral budesonide is as effective as oral prednisolone in active Crohn's disease. The Global Budesonide Study Group. *Gut.* 1997;41:209–14.
53. Dignass A, Lindsay JO, Sturm A, Windsor A, Colombel JF, Allez M, D'Haens G, D'Hoore A, Mantzaris G, Novacek G, Oresland T, Reinisch W, Sans M, Stange E, Vermeire S, Travis S, Van Assche G. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management. *J Crohns Colitis.* 2012 Dec;6(10):991-1030.
54. Bouguen G, Levesque BG, Feagan BG, Kavanaugh A, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF, Hanauer SB, Sandborn WJ. Treat to target: a proposed new paradigm for the management of Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015 Jun;13(6):1042-50.
55. Korelitz BI, Sommers SC. Response to drug therapy in Crohn's disease: evaluation by rectal biopsy and mucosal cell counts. *J Clin Gastroenterol.* 1984; 6:123-127
56. Korelitz BI. Mucosal healing as an index of colitis activity: back to histological healing for future indices. *Inflamm Bowel Dis.* 2010; 16(9):1628-1630.

57. de Lange T, Larsen S, Aabakken L. Inter-observer agreement in the assessment of endoscopic findings in ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol.* 2004; 4: 9.
58. Vieira A, Fang CB, Rolim EG, Klug WA, Steinwurz F, Rossini LG, Candelária PA. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. *BMC Res Notes.* 2009; 2: 221.
59. Rogler G, Vavricka S, Schoepfer A, Lakatos PL. Mucosal healing and deep remission: what does it mean? *World J Gastroenterol.* 2013 Nov 21;19(43):7552-60.
60. Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, et al. A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2002;122:512-530.
61. Sandborn WJ. Mucosal healing with infliximab: results from the active ulcerative colitis trials. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2012; 8: 117-119.
62. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, Travers S, Rachmilewitz D, Hanauer SB, Lichtenstein GR, de Villiers WJ, Present D, Sands BE, Colombel JF. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 2005; 353: 2462-2476.
63. Sandborn WJ, Colombel JF, D'Haens G, Van Assche G, Wolf D, Kron M, Lazar A, Robinson AM, Yang M, Chao JD, Thakkar R. One-year maintenance outcomes among patients with moderately-to-severely active ulcerative colitis who responded to induction therapy with adalimumab: subgroup analyses from ULTRA 2. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 37:204-213.
64. D'Haens GR, Fedorak R, Lemann M, et al. Endpoints for clinical trials evaluating disease modification and structural damage in adults with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1599-1604.

65. Hommes D, Colombel JF, Emery P et al. Changing Crohn's disease management: need for new goals and indices to prevent disability and improve quality of life. *J Crohns Colitis*. 2012;6(2): S224–S234.
66. Rutgeerts P, Van Assche G, Sandborn WJ, Wolf DC, Geboes K, Colombel JF, Reinisch W, Kumar A, Lazar A, Camez A, et al. Adalimumab induces and maintains mucosal healing in patients with Crohn's disease: data from the EXTEND trial. *Gastroenterology*. 2012;142:1102–1111.e2.
67. Lennard-Jones JE, Shivananda S. Clinical uniformity of inflammatory bowel disease at presentation and during the first year of disease in the north and south of Europe. EC-IBD Study group. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997;9:353-359.
68. Lichtenstein GR, Yan S, Bala M, Hanauer S. Remission in patients with Crohn's disease is associated with improvement in employment and quality of life and a decrease in hospitalizations and surgeries. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(1):91–6.
69. Feagan BG, Panaccione R, Sandborn WJ, et al. Effects of adalimumab therapy on incidence of hospitalization and surgery in Crohn's disease: results from the CHARM study. *Gastroenterology*. 2008;135(5):1493–9.
70. Summers RW, Switz DM, Sessions JT, et al. National cooperative Crohn's disease study group: results of drug treatment. *Gastroenterology*. 1979;77:847–69.
71. Sutherland LR, Singleton J, Sessions J, et al. Double-blind, placebo-controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut*. 1991;32(9):1071–5.
72. Stange EF, Travis SP, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K, Barakauskiene A, Villanacci V, Von Herbay A, Warren BF, Gasche C, Tilg H, Schreiber SW, Scholmerich J, Reinisch W, European Crohn's and Colitis

- Organisation. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut*. 2006;55:1-15.
73. Malchow H, Ewe K, Brandes JW, et al. European co-operative Crohn's disease study (ECCDS): results of drug treatment. *Gastroenterology*. 1984;86(2):249–66.
74. Пенчев П. Клинична характеристика, протичане и лечение на болестта на Крон – някои специфични особености наблюдавани в 18 годишния ни опит. [Дисертация]. София: Медицински университет – София; 2009.
75. Sutherland LR, Martin F, Bailey RJ, et al. A randomized, placebo-controlled, double-blind trial of mesalamine in the maintenance of remission of Crohn's disease. The Canadian Mesalamine for Remission of Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology*. 1997;112:1069–77.
76. Colombel JF, Lemann M, Cassagnou M, et al. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives (GETAID). A controlled trial comparing ciprofloxacin with mesalazine for the treatment of active Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 1999;94:674–8.
77. Borgaonkar MR, MacIntosh DG, Fardy JM. A meta-analysis of anti-mycobacterial therapy for Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:725–9.
78. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2007;133(5):1670-1689.
79. Hommes DW, van Deventer SJ. Endoscopy in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2004;126:1561-1573.
80. Targan SR, Feagan BG, Fedorak RN, et al. International Efficacy of Natalizumab in Crohn's Disease Response and Remission (ENCORE) Trial Group. Natalizumab for the treatment of active Crohn's disease: results of the ENCORE Trial. *Gastroenterology*. May 2007;132(5):1672–83.

81. Hommes D, Mikhajlova T, Stoinov S, et al. Fontolizumab (Huzaf), a humanized anti-IFN-gamma antibody, has clinical activity and excellent tolerability in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004;127:332.
82. Neuhaus H, Beyna T, Schneider M, Devière J. Novel motorized spiral enteroscopy: first clinical case. *Video GIE*. Oct 2016; 1(2):32-33.
83. British Society of Gastroenterology. Guidelines for osteoporosis in coeliac disease and inflammatory bowel disease. *Gut*. 2000;46(Suppl 1):i1-8.
84. Otley A, Steinhart AH. Budesonide for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* Oct 19 2005(4):CD000296 Review.
85. Toruner M, Loftus EV, Harmsen WS, et al. Risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2008;134:929–36.
86. Танкова Л. Абдоминална и ендолуменна ехография в диагностиката на идиопатичните възпалителни чревни заболявания и колоректалния рак. [Дисертация]. София: Медицински университет – София; 1997.
87. Strobel D, Goertz RS, Bernatik T. Diagnostics in inflammatory bowel disease: ultrasound. *World J Gastroenterol*. 2011 Jul 21;17(27):3192-7.
88. Jenkins D, Balsitis M, Gallivan S, Dixon MF, Gilmour HM, Shepherd NA, Theodossi A, Williams GT. Guidelines for the initial biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease. The British Society of Gastroenterology Initiative. *J Clin Pathol*. 1997;50:93-105.
89. Иванова Р, Къосева Д. Хистологична диагноза на хроничните възпалителни заболявания на червото – болест на Крон и улцерозен колит (ЕСС) критерии 2010 и 2012). *Българска хепатогастроентерология*. 2013;15(1):27-30.

90. Mahadeva U, Martin JP, Patel NK, Price AB. Granulomatous ulcerative colitis: a re-appraisal of the mucosal granuloma in the distinction of Crohn's disease from ulcerative colitis. *Histopathology*. 2002;41:50-55.
91. Кадиян Х. Клиника, еволюция и прогноза на улцерозния колит. Автореферат., София, 1990.
92. Fine KD, Schiller LR. AGA technical review on the evaluation and management of chronic diarrhea. *Gastroenterology*. 1999;116:1464–86.
93. Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*. 2007;369:1641–57.
94. Danese S, Semeraro S, Papa A, Roberto I, Scaldaferri F, Fedeli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2005;11:7227–36.
95. Danese S, Papa A, Saibeni S, Repici A, Malesci A, Vecchi M. Inflammation and coagulation in inflammatory bowel disease: the clot thickens. *Am J Gastroenterol*. 2007;102:174–86.
96. Fefferman DS, Farrell RJ. Endoscopy in inflammatory bowel disease: indications, surveillance, and use in clinical practice. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3:11–24.
97. Pera A, Bellando P, Caldera D, Ponti V, Astegiano M, Barletti C, et al. Colonoscopy in inflammatory bowel disease. Diagnostic accuracy and proposal of an endoscopic score. *Gastroenterology*. 1987;92:181–5.
98. Kiesslich R, Fritsch J, Holtmann M, Koehler HH, Stolte M, Kanzler S, Nafe B, Jung M, Galle PR, Neurath MF. Methylene blue-aided chromoendoscopy for the detection of intraepithelial neoplasia and colon cancer in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2003;124(4):880–8.
99. Travis SP, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF, Feagan BG, Hanauer SB, Lémann M, Lichtenstein GR, Marteau PR, Reinisch

- W, Sands BE, Yacyshyn BR, Bernhardt CA, Mary JY, Sandborn WJ. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). *Gut* 2012;61:535–42.
100. Thia KT, Loftus EVj, Pardi DS, Kane SV, Faubion WA, Tremaine WJ, Schroeder KW, Harmsen SW, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Measurement of disease activity in ulcerative colitis: Interobserver agreement and predictors of severity. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Jun;17(6):1257-64
101. Travis SP, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF, Feagan BG, Hanauer SB, Lichtenstein GR, Marteau PR, Reinisch W, Sands BE, Yacyshyn BR, Schnell P, Bernhardt CA, Mary JY, Sandborn WJ. Reliability and initial validation of the ulcerative colitis endoscopic index of severity. *Gastroenterology*. 2013 Nov;145(5):987-95.
102. Baron JH, Connell AM, Lennard-Jones JE. Variation between observers in describing mucosal appearances in proctocolitis. *Br Med J* 1964;1:89–92.
103. Buckell NA, Williams GT, Bartram CI, Lennard-Jones JE. Depth of ulceration in acute colitis: Correlation with outcome and clinical and radiological features. *Gastroenterology*. 1980 Jul;79(1):19-25.
104. Su C, Lichtenstein GR. Sleisenger & Fordtran’s gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. Vol. 2, 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006. Chapter 109, Ulcerative Colitis; p.2499- 2548.
105. Schreyer AG, Scheibl K, Heiss P, Feuerbach S, Seitz J, Herfarth H. MR colonography in inflammatory bowel disease. *AbdomImaging*. 2006;31(3):302–7.

106. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med.* 1987;317(26):1625–9.
107. Parente F, Molteni M, Marino B, et al. Are colonoscopy and bowel ultrasound useful for assessing response to short-term therapy predicting disease outcome of moderate-to-severe form of ulcerative colitis?: a prospective study. *Am J Gastroenterol.* 2010;105:1150–7.
108. Homann N, Klarmann U, Fellermann K, Bruning A, Klingenberg-Noftz R, Witthoft T, et al. Mesenteric pulsatility index analysis predicts response to azathioprine in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11:126–32.
109. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern F. Development of a Crohn's Disease activity Index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology.* 1976;70:439-444.
110. Sostegni R, Daperno M, Scaglione N, Lavagna A, Rocca R, Pera A. Review article: Crohn's disease: monitoring disease activity. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;17(2):11-17.
111. Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet.* 1980;1:514.
112. Kane SV, Sandborn WJ, Rufo PA, Zholudev A, Boone J, Lysterly D, Camilleri M, Hanauer SB. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:1309-1314.
113. Myren J, Bouchier IAD, Watkinson G, Softley A, Clamp SE, de Dombal FT. The O.M.G.E. multinational inflammatory bowel disease survey 1976-82. A further report on 2,657 cases. *Scand J Gastroenterol suppl.* 1984;95:1-27.

114. van Hees PA, van Elteren PH, van Lier HJ, van Tongeren JH. An index of inflammatory activity in patients with Crohn's disease. *Gut*. 1980;21:279-286.
115. Jorgensen LG, Fredholm L, Hyltoft Petersen P, Hey H, Munkholm P, Brandslund I. How accurate are clinical activity indices for scoring of disease activity in inflammatory bowel disease (IBD)? *Clin Chem Lab Med*. 2005;43:403-411.
116. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J*. 1955;2:1041–1048.
117. Powell-Tuck J, Bown RL, Lennard-Jones JE. A comparison of oral prednisolone given as single or multiple daily doses for active proctocolitis. *Scand J Gastroenterol* 1978;13:833–837.
118. Rachmilewitz D. Coated mesalazine (5-aminosalicylic acid) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomised trial. *BMJ*. 1989; 298: 82–6.
119. Sutherland LR, Martin F, Greer S, Robinson M, Greenberger N, Saibil F, Martin T, Sparr J, Prokipchuk E, Borgen L. 5-Aminosalicylic acid enema in the treatment of distal ulcerative colitis, proctosigmoiditis, and proctitis. *Gastroenterology* 1987; 92(6):1894–8.
120. Kamm M, Sandborn W, Gassull M, Schreiber S, Jackowski L, Mikhailova T. Comparison of the efficacy and safety of SPD476, a novel, once-daily formulation of mesalamine, and Asacol with placebo for the induction of remission of mild-moderate ulcerative colitis: a phase III study (abstr). *Am J Gastroenterol* 2005;100(Suppl):S291.
121. Lichtenstein G, Kamm M, Sandborn W, Boddu P, Gubergrits N. SPD476 is a novel, once-daily, effective and well-tolerated 5-ASA

- formulation for the induction of remission of mild-to-moderate ulcerative colitis: a phase III study (abstr). *Am J Gastroenterol.* 2005;100(Suppl):S291.
122. Higgins PD, Schwartz M, Mapili J, Krokos I, Leung J, Zimmermann EM. Patient defined dichotomous end points for remission and clinical improvement in ulcerative colitis. *Gut* 2005; 54: 782–8.
123. Lichtiger S, Present DH. Preliminary report: cyclosporin in treatment of severe active ulcerative colitis (comment). *Lancet.* 1990;336:16–19.
124. Targan SR, Salzberg BA, Mayer L, Hommes D, Hanauer S, Mahadevan U, Reinisch W, Plevy SE, Dignass AU, Van Assche G, Buchman A, Mechkov G, Krastev Z, Lowder JN. A phase I-II study: multiple dose levels of visilizumab are well tolerated and produce rapid and sustained improvement in ulcerative colitis patients refractory to treatment with IV steroids (IVSR-UC). *Gastroenterology.* 2005;128(Suppl 2) (abstr).
125. Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G, Michelassi F, Hanauer S. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. *N Engl J Med.* 1994;330:1841–1845.
126. Bouguen G, Levesque BG, Pola S, Evans E, Sandborn WJ. Endoscopic assessment and treating to target increase the likelihood of mucosal healing in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014 Jun;12(6):978-85.
127. Mary JY, Modigliani R. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). *Gut.* 1989;30:983-989.
128. Cellier C, Sahmoud E, Frougel E, Adenis A, Belaiche J, Bretagne J, Florent C, Bouvry M, Mary J, Modigliani R, the Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. Correlations

- between clinical activity, endoscopic severity, and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. A prospective multicenter study of 121 cases. *Gut*. 1994;35:231-235.
129. Daperno M, D'Haens G, Van Assche G, Baert F, Bulois P, Maunoury V, Sostegni R, Rocca R, Pera A, Gevers A, Mary JY, Colombel JF, Rutgeerts P. Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. *Gastrointest Endosc*. 2004;60:505-512.
130. Reese GE, Purkayastha S, Tilney HS, von Roon A, Yamamoto T, Tekkis PP. Strictureplasty vs resection in small bowel Crohn's disease: an evaluation of short-term outcomes and recurrence. *Colorectal Dis* 2007;9(8):686-94.
131. Yamamoto T, Fazio VW, Tekkis PP. Safety and efficacy of strictureplasty for Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum* 2007;50(11):1968-86.
132. Fearnhead NS, Chowdhury R, Box B, George BD, Jewell DP, Mortensen NJ. Long-term follow-up of strictureplasty for Crohn's disease. *Br J Surg* 2006;93(4):475-82.
133. Fichera A, Lovadina S, Rubin M, Cimino F, Hurst RD, Michelassi F. Patterns and operative treatment of recurrent Crohn's disease: a prospective longitudinal study. *Surgery* 2006;140(4):649-54.
134. Menon AM, Mirza AH, Moolla S, Morton DG. Adenocarcinoma of the small bowel arising from a previous strictureplasty for Crohn's disease: report of a case. *Dis Colon Rectum* 2007;50(2):257-9.
135. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Kerremans R, Coenegrachts JL, Coremans G. Natural history of recurrent Crohn's disease at the ileocolonic anastomosis after curative surgery. *Gut* 1984;25:665-672.

136. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1990;99:956-963.
137. Annese V, Daperno M, Rutter MD, Amiot A, Bossuyt P, East J, Ferrante M, Götz M, Katsanos KH, Kießlich R, Ordás I, Repici A, Rosa B, Sebastian S, Kucharzik T, Eliakim R. European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2013 Dec;7(12):982-1018.
138. Van Assche G, Sandborn WJ, Feagan BG, Salzberg BA, Silvers D, Monroe PS, et al. Daclizumab, a humanised monoclonal antibody to the interleukin 2 receptor (CD25), for the treatment of moderately to severely active ulcerative colitis: a randomised, double blind, placebo controlled, dose ranging trial. *Gut* 2006;55:1568–74.
139. Feagan BG, Greenberg GR, Wild G, Fedorak RN, Paré P, McDonald JW, Dubé R, Cohen A, Steinhart AH, Landau S, Aguzzi RA, Fox IH, Vandervoort MK. Treatment of ulcerative colitis with a humanized antibody to the alpha4beta7 integrin. *N Engl J Med*. 2005;352:2499–507.
140. Corte CJ, Fernandopulle N, Catuneanu A, Burger D, Cesarini M, White L, Keshav S, Travis S. Association between the ulcerative colitis endoscopic index of severity (UCEIS) and outcomes in acute severe ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2015 May;9(5):376-81.
141. Peyrin Biroulet L, Sandborn WJ, Sands B, Reinisch W, Bemelman W, V Bryant R, D'Haens G, Dotan I, Dubinsky M, Feagan B, Fiorino G, Gearry R, Krishnareddy S, Lakatos PL, Loftus EV, Marteau P, Munkholm P, Murdoch TB, Ordás I, Panaccione R, Riddell RH, Ruel J, Rubin DT, Samaan M, Siegel CA, Silverberg MS, Stoker J, Schreiber S, Travis S, Van Assche G, Danese S, Panes J, Bouguen G, O'Donnell S, Pariente B, Winer S, Hanauer S,

- Colombel J. Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target. *Am J Gastroenterol*. 2015; 110:1324–1338.
142. Samuel S, Bruining DH, Loftus Jr EV, Thia KT, Schroeder KW, Tremaine WJ, et al. Validation of the ulcerative colitis colonoscopic index of severity and its correlation with disease activity measures. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(49-54):e41.
143. Matts SG. The value of rectal biopsy in the diagnosis of ulcerative colitis. *QJM*. 1961;30:393–407.
144. Powell-Tuck J, Day DW, Buckell NA, Wadsworth J, Lennard-Jones JE. Correlation between defined sigmoidoscopic appearances and other measures of disease activity in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 1982;27:533–7.
145. Riley SA, Mani V, Goodman MJ, Dutt S, Herd ME. Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? *Gut* 1991;32:174–8.
146. Kato S, Fujii T, Koba I, et al. Assessment of colorectal lesions using magnifying colonoscopy and mucosal dye spraying: can significant lesions be distinguished? *Endoscopy* 2001;33:306–10.
147. Isomoto H, Uehara R, Hayashi T, Shiota J, Matsushima K, Chen CC, Takeshima F, Nakayama T, Nakao K. Magnifying Endoscopic Findings Can Predict Clinical Outcome during Long-Term Follow-Up of More Than 12 Months in Patients with Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Res Pract*. 2013;2013:671576
148. Hurlstone DP, Cross SS, Adam I, et al. Efficacy of high magnification chromoscopic colonoscopy for the diagnosis of neoplasia in flat and depressed lesions of the colorectum: a prospective analysis. *Gut*. 2004;53:284–90.

149. Hurlstone DP, Cross SS. Role of aberrant crypt foci detected using highmagnification-chromoscopic colonoscopy in human colorectal carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005;20:173–81.
150. Odze R, Antonioli D, Peppercorn M, Goldman H. Effect of topical 5-aminosalicylic acid (5-ASA) therapy on rectal mucosal biopsy morphology in chronic ulcerative colitis. *Am J Surg Pathol.* 1993;17:869–75.
151. Joossens S, Daperno M, Shums Z, Van SK, Goeken JA, Trapani C, et al. Interassay and interobserver variability in the detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with ulcerative colitis. *Clin Chem* 2004;50:1422–5.
152. Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, Niles JL, Shah S, Bousvaros A, et al. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2001;120:13–20.
153. Ando T, Nishio Y, Watanabe O, Takahashi H, Maeda O, Ishiguro K, Ishikawa D, Ohmiya N, Niwa Y, Goto H. Value of colonoscopy for prediction of prognosis in patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2008 Apr 14;14(14):2133-8.
154. Vermeire S., Van Assche G. et P. Rutgeerts . Laboratory markers in IBD: Useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006;55:426–31.
155. Langhorst J, Elsenbruch S, Mueller T. Comparison of 4 neutrophil-derived proteins in feces as indicators of disease activity in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11:1085–1091.
156. Roseth, AG, Schmidt P.N., Fagerhol M.K. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein in patients with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 1999; 34:50–4.

157. Desai D, Faubion WA, Sandborn WJ. Review article: biological activity markers in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:247-255.
158. Saverymuttu SH, Hodgson HJ, Chadwick VS, et al. Differing acute phase responses in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut* 1986;27:809–13.
159. Florin TH, Paterson EW, Fowler EV, Radford-Smith GL. Clinically active Crohn's disease in the presence of a low C-reactive protein. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:306-311.
160. Thomas RD, Westengard JC, Hay KL, et al. Calibration and validation for erythrocyte sedimentation tests. Role of the International Committee on Standardization in Hematology reference procedure. *Arch Pathol Lab Med.* 1993;117:719–23.
161. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999;340:448–54.
162. Sachar DB, Smith H, Chan S, et al. Erythrocytic sedimentation rate as a measure of clinical activity in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol.* 1986;8:647–50.
163. Sachar DB, Luppescu NE, Bodian C, et al. Erythrocyte sedimentation as a measure of Crohn's disease activity: opposite trends in ileitis versus colitis. *J Clin Gastroenterol.* 1990;12:643–6.
164. Yamamoto T, Umegae S, Kitagawa T, et al. Systemic and local cytokine production in quiescent ulcerative colitis and its relationship to future relapse: a prospective, pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:589–96.

165. Meresse B, Rutgeerts P, Malchow H, et al. Low ileal interleukin 10 concentrations are predictive of endoscopic recurrence in patients with Crohn's disease. *Gut* 2002;50:25–8.
166. Reimund JM, Wittersheim C, Dumont S, Muller CD, Kenney JS, Baumann R, Poindron P, Duclos B. Increased production of tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 by morphologically normal intestinal biopsies from patients with Crohn's disease. *Gut* 1996;39:684-689.
167. Imada A, Ina K, Shimada M, et al. Coordinate upregulation of interleukin-8 and growth-related gene product-a is present in the colonic mucosa of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36:854–64.
168. Манолова И. Антинеутрофилни цитоплазмни антитела при пациенти със системен лупус еритематозус и ревматоиден артрит. [Дисертация]. Стара Загора: Тракийски университет; 2004.
169. Israeli E, Grotto I, Gilburd B, Balicer RD, Goldin E, Wiik A, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut.* 2005 Sep;54(9):1232-1236.
170. Vernier G, Sendid B, Poulain D, Colombel JF. Relevance of serologic studies in inflammatory bowel disease. *Current gastroenterology reports.* 2004 Dec;6(6):482-487.
171. Манолова И, Спасова З, Кадиян Х, Алтънкова И. Антитела срещу неутрофилни цитоплазмни антигени (АНЦА) при хронични възпалителни заболявания ва червата. *Съвр Мед.* 1996;XLVII(1):16-19.
172. Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut.* 1998 Jun;42(6):788-791.

173. Ghoshal UC, Ghoshal U, Singh H, Tiwari S. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody is not useful to differentiate between Crohn's disease and intestinal tuberculosis in India. *Journal of postgraduate medicine*. 2007 Jul-Sep;53(3):166-170.
174. Cinemre H, Bilir C, Gokosmanoglu F, Kadakal F. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in acute myocardial infarction. *J Investig Med*. 2007 Dec;55(8):444-449.
175. Krause I, Monselise Y, Milo G, Weinberger A. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies--a novel serologic marker for Behcet's disease. *Clinical and experimental rheumatology*. 2002 Jul-Aug;20(4 Suppl 26):S21-24.
176. Toumi D, Mankai A, Belhadj R, Ghedira-Besbes L, Jeddi M, Ghedira I. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2007 Jul;42(7):821-826.
177. Rieder F, Fiocchi C. Intestinal fibrosis in inflammatory bowel disease - Current knowledge and future perspectives. *Journal of Crohn's & colitis*. 2008 Dec;2(4):279-290.
178. Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, et al. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology*. 2006 Oct;101(10):2410-2422.
179. Iskandar HN, Ciorba MA. Biomarkers in inflammatory bowel disease: current practices and recent advances. *Transl Res*. 2012. Apr;159(4):313-325.
180. Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease: practical consideration for clinicians. *Gastroenterologie clinique et biologique*. 2009 Jun;33 Suppl 3:S158-173.

181. Silberer H, Küppers B, Mickisch O, Baniewicz W, Drescher M, Traber L., et al. Fecal leukocyte proteins in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Clin Lab.* 2005;51: 117–126.
182. Walker T, Land M, Kartashov A, Saslowsky T, Lysterly D, Boone J. *et al.* Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;44: 414–422.
183. Schoepfer A, Trummler M, Seeholzer P, Seibold-Schmid B, Seibold F. Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis.* 2008;14:32–39.
184. Sipponen T, Käkkäinen P, Savilahti E, Kolho K, Nuutinen H, Turunen U., et al. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;28:1221–1229.
185. Gisbert J, McNicholl A, Gomollon F. Questions and answers on the role of fecal lactoferrin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1746–1754.
186. Foell D, Wittkowski H, Ren Z, Turton J, Pang G, Daebritz J. et al. Phagocyte-specific S100 proteins are released from affected mucosa and promote immune responses during inflammatory bowel disease. *J Pathol.* 2008;216: 183–192
187. Manolakis A, Kapsoritakis A, Georgoulas P, Tzavara C, Valotassiou V, Kapsoritaki A, et al. Moderate performance of serum S100A12, in distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.* 2010;10:118.

188. Nancey S, Boschetti G, Moussata D, Cotte E, Peyras J, Cuerq C. et al. Neopterin is a novel reliable fecal marker as accurate as calprotectin for predicting endoscopic disease activity in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19:1043–1052.
189. Turner D, Leach S, Mack D, Uusoue K, McLerno R, Hyams J, et al. Faecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase and S100A12 in severe ulcerative colitis: a prospective multicentre comparison of predicting outcomes and monitoring response. *Gut.* 2010;59:1207–1212.
190. Czub E, Herzig K, Szaflarska-Popawska A, Kiehne K, Socha P, Woś H, et al. Fecal pyruvate kinase: a potential new marker for intestinal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2007; 42:1147–1150.
191. Митова-Симинкович С, Танкова Л, Герова В. Приложение на фекален М2-пируват киназен тест при органична чревна патология. *Българска хепатогастроентерология.* 2012;14(2):35-39.
192. Chung-Faye G, Hayee B, Maestranzi S, Donaldson N, Forgacs I, Sherwood R. Fecal M2-pyruvate kinase (M2-PK): a novel marker of intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13:1374–1378.
193. Brophy MB, Nolan EM. Manganese and Microbial Pathogenesis: Sequestration by the Mammalian Immune System and Utilization by Microorganisms. *ACS ChemBiol.* 2015;10(3):641–651.
194. Fagerhol M, Dale I, Andersson T. A radioimmunoassay for a granulocyte protein as a marker in studies on the turnover of such cells. *Bull Eur Physiopathol Respir.* 1980;16(Suppl.): 273–282.

195. Gearry R, Barclay M, Florkowski C, George P, Walmsley T. Faecal calprotectin: the case for a novel non-invasive way of assessing intestinal inflammation. *N Z Med J.* 2005 May 6;118(1214):U1444.
196. Tibble J A, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2001, 7(4):460-465.
197. Alic M. Is fecal calprotectin the next standard in inflammatory bowel disease activity test? *Am. J. Gastroenterol.*,1999;94 (11):3370-1.
198. Larsen A. Inflammatory biomarkers with focus on Calprotectin (S100A8/S100A9) and S100A12 (EN-RAGE). Method development and application in acute radiation proctitis and rheumatoid arthritis patients. Dissertation for the degree philosophiae doctor (PhD) at the University of Bergen 2006.
199. Roseth A, Fagerhol M, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in faeces. A methodological study. *Scand J Gastroenterol.* 1992; 27:793–798.
200. Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin a proper name for the elusive myelomonocytic protein. *J Clin Pathol.* 1996;49:M74–9
201. Hille A, Schmidt-Giese E, Hermann PM, Herrmann MKA, Rave-Fränk M, Schirmer M. A prospective study of faecal calprotectin and lactoferrin in the monitoring of acute radiation proctitis in prostate cancer treatment. *Scand J. Gastroenterol.* 2008;43:52-58.
202. Наков В, Владимирова Б, Шищенко М, Пенчев П, Стойнов С, Кундуржиев Т, Наков Р. Фекален калпротектин – неинвазивен маркер за установяване на интестинално възпаление при пациенти приемащи нестероидни противовъзпалителни средства. *Българска хепатогастроентерология*, 2012, 14(1): 31-36.

203. Nakov VN, Penchev PI, Nakov RV, Terziev IN, Shishenkov MT, Kundurzhiev TG. Fecal Calprotectin – a Non Invasive Marker for Assessing the Intestinal Inflammation in Patients with Colonic Diverticular Disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*. 2013;2(5):585-589.
204. Bühlmann Laboratories AG. Quantum Blue Calprotectin: Quantitative lateral flow assay [pamphlet]. Schönenbuch: Bühlmann Laboratories AG; 2009.
205. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut*. 2005;54:364–368.
206. Carroccio A, Iacono G, Cottone M, Di Prima L, Cartabellotta F, Cavataio F, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clin Chem*. 2003; 49: 861–867
207. Konikoff MR, Date I, Andersson I. Role of calprotectin as a biomarker of intestinal inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 524:534.
208. Атанасова А. Клинична оценка на пациентите с язвен колит – съвременен подход. [Дисертация]. Варна: Медицински университет – Варна; 2014.
209. Shentova R, Velikova T, Zhelev C, Pantaleeva E, Hadjiiski P. Diagnostic value of fecal calprotectin point of care testing in the pediatric practice. *Merit R J Med Sci*. 2016; 4(3):169-172.

210. Lin JF, Chen JM, Zuo JH et al. Meta-analysis: Fecal Calprotectin for Assessment of Inflammatory Bowel Disease Activity. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20(8):1407-15
211. Gaya DR, Mackenzie JF. Faecal calprotectin: a bright future for assessing disease activity in Crohn's disease. *Q. J. Med.* 2002; 95: 557-558.
212. van Rheenen PF, van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease:diagnostic metaanalyses. *BMJ.* 2010;341:c3369.
213. Pineton G, Peyrin-Biroulet L, Lémann M, Colombel J. Clinical implications of mucosal healing for the management of IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7: 15–29.
214. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S et al. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2000 Jul;119(1):15-22.
215. Lehmann FS, Burri E, Beglinger C. The role and utility of faecal markers in Inflammatory Bowel Disease. *Ther Adv Gastroenterol.* 2015;8(1):23-36.
216. Manz M, Burri E, Rothen C, Tchanguizi N, Niederberger C, Rossi L, Beglinger C, Lehmann FS. Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study. *BMC Gastroenterol.* 2012; 12: 5.
217. Husebye E, Ton H, Johne B. Biological variability of fecal calprotectin in patients referred for colonoscopy without colonic inflammation or neoplasm1. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2683–2687.
218. Moum B, Jahnsen J, Bernklev T. Fecal calprotectin variability in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16:1091–1092.

219. Lason A, Stotzer P, Ohman L, Isaksson S, Sapnara M, Strid H. The intra-individual variability of faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2015; 9(1):26-32.
220. D’Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis*. 2007; 22:429–437.
221. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut*. 2000; 47:506–513.
222. Jensen MD, Kjeldsen J, Nathan T. Fecal calprotectin is equally sensitive in Crohn's disease affecting the small bowel and colon. *Scand J Gastroenterol*. 2011 Jun;46(6):694-700.
223. Ricanek P, Brackmann S, Perminow G, Lyckander L, Sponheim J, Holme O, et al. Evaluation of disease activity in IBD at the time of diagnosis by the use of clinical, biochemical, and fecal markers. *Scand J Gastroenterol*. 2011; 46:1081–1091.
224. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Safroneeva E, Romero Y, Armstrong D, Schmidt C, Trummel M, Pittet V, Vavricka SR. Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index, C-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Feb;19(2):332-41.
225. Nishio Y, Ando T, Maeda O, et al. Pit patterns in rectal mucosa assessed by magnifying colonoscope are predictive of relapse in patients with quiescent ulcerative colitis. *Gut*. 2006;55:1768–1773.
226. Beaugerie L, Sokol H. Clinical, serological and genetic predictors of inflammatory bowel disease course. *World J Gastroenterol*. 2012; 18: 3806-3813.

227. Yarur AJ, Strobel SG, Deshpande AR, Abreu MT. Predictors of aggressive inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol (NY)*. 2011; 7: 652-659.
228. Louis E, Belaiche J, Reenaers C. Do clinical factors help to predict disease course in inflammatory bowel disease? *World J Gastroenterol*. 2010; 16: 2600-2603.
229. Beaugerie L, Seksik P, Nion-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2006; 130: 50-656.
230. Solberg IC, Vatn MH, Høie O, Stray N, Sauar J, Jahnsen J, Moum B, Lygren I. Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1430-1438.
231. Loly C, Belaiche J, Louis E. Predictors of severe Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 948-954.
232. Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Aadland E, Schulz T, Vatn MH, Moum B. Clinical course in Crohn's disease: results of a fiveyear population-based follow-up study (the IBSEN study). *Scand J Gastroenterol*. 2007; 42: 602-610.
233. Hoie O, Wolters FL, Riis L, Bernklev T, Aamodt G, Clofent J, Tsianos E, Beltrami M, Odes S, Munkholm P, Vatn M, Stockbrügger RW, Moum B. Low colectomy rates in ulcerative colitis in an unselected European cohort followed for 10 years. *Gastroenterology* 2007; 132: 507-515.
234. Kane SV, Accortt NA, Magowan S, Brixner D. Predictors of persistence with 5-aminosalicylic acid therapy for ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* Apr 15 2009;29(8):855-62.

235. Langholz E, Munkholm P, Davidsen M, Nielsen OH, Binder V. Changes in extent of ulcerative colitis: a study on the course and prognosis factors. *Scand J Gastroenterol* Mar 1996;31(3):260–6.
236. Bello C, Belaiche J, Louis E, Reenaers C. Evolution and predictive factors of relapse in ulcerative colitis patients treated with mesalazine after a first course of corticosteroids. *J Crohns Colitis*. 2011 Jun;5(3):196-202.
237. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011; 140: 1785-1794.
238. Cervený P, Borlík M, Kubena A, Vlček J, Lakatos PL, Lukas M. Non adherence in inflammatory bowel disease: results of a factor analysis. *Inflamm Bowel Dis* Oct 2007;13(10):1244–9.
239. Reese GE, Nanidis T, Borysiewicz C, Yamamoto T, Orchard T, Tekkis PP. The effect of smoking after surgery for Crohn's disease: a meta-analysis of observational studies. *Int J Colorectal Dis*. 2008; 23: 1213-122.
240. Timmer A, Sutherland LR, Martin F. Oral contraceptive use and smoking are risk factors for relapse in Crohn's disease. The Canadian Mesalamine for Remission of Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology* 1998; 114: 1143-1150.
241. Beaugerie L, Massot N, Carbonnel F, Cattan S, Gendre JP, Cosnes J. Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2113-2116.
242. Roseth A, Aadland E, Grzyb K. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2004; 39:1017–1020.

243. Lamb CA, Mohiuddin MK, Gicquel J et al. Faecal calprotectin or lactoferrin can identify postoperative recurrence in Crohn's disease. *Br J Surg.* 2009, 96, 663–674
244. Damms A, Bischoff SC. Validation and clinical significance of a new calprotectin rapid test for the diagnosis of gastrointestinal diseases. *Int J Colorectal Dis*, 2008, 23, 985–992.
245. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, et al. Ulcerative colitis: Correlation of the Rachmilewitz endoscopic activity index with fecal calprotectin, clinical activity, C-reactive protein, and blood leukocytes. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2009, vol.15, 12, 1851–1858.
246. Coorevits L, Baert FJ, Vanpoucke HJ. Faecal calprotectin: comparative study of the Quantum Blue rapid test and an established ELISA method. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51: 825-31.
247. Sydora MJ, Sydora BC, Fedorak RN. Validation of a point-of-care desktop device to quantitate fecal calprotectin and distinguish inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *J Crohns Colitis.* 2012; 6: 207-14.
248. Наков В, Шишенков М, Наков Р, Кундуржиев Т. Сравняване на резултатите от изследване на фекален калпротектин с два различни теста – ELISA и бърз количествен тест „Quantum Blue”. *Българска хепатогастроентерология.* 2013; 15(1): 34 -39.
249. Bernell O, Lapidus A, Hellers G. Risk factors for surgery and recurrence in 907 patients with primary ileocaecal Crohn's disease. *Br J Surg.* 2000; 87: 1697–1701.
250. Scarpa M, D'Incà R, Basso D, Ruffolo C, Polese L, Bertin E, et al. Fecal lactoferrin and calprotectin after ileocolonic resection for Crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* 2007; 50:861–869.

251. Beattie RM, Walker-Smith JA, Murch SH. Indications for investigation of chronic gastrointestinal symptoms. *Arch Dis Child* 1995;73:354–5.
252. Poullis AP, Zar S, Sundaram KK, et al. A new, highly sensitive assay for C-reactive protein can aid the differentiation of inflammatory bowel disorders from constipation- and diarrhoea-predominant functional bowel disorders. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:409–12.
253. Paduchova Z, Durackova Z. Fecal calprotectin as a promising marker of inflammatory diseases. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110 (10), 598:602.
254. Xiang, J.Y., Q. Ouyang, G.D.Li et al. Clinical value of fecal calprotectin in determining disease activity of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2008 January 7; 14(1): 53-57.
255. Schoepfer A, Beglinger C, Straumann A, Trummel M, Vavricka SR, Bruegger LE, et al. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 162–169.
256. Kosiara M, Paradowski L. Fecal Calprotectin as an Activity Marker of Inflammatory Bowel Disease in Children. *Adv Clin Exp Med* 2015, 24, 5, 815–822.
257. Ikeya K, Hanai H, Sugimoto K, Osawa S, Kawasaki S, Iida T, Maruyama Y, Watanabe F. The Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity More Accurately Reflects Clinical Outcomes and Long-term Prognosis than the Mayo Endoscopic Score. *J Crohns Colitis*. 2016 Mar;10(3):286-95.
258. Travis SP, Schnell D, Feagan BG, Abreu MT, Altman DG, Hanauer SB, Krzeski P, Lichtenstein GR, Marteau PR, Mary JY, Reinisch W, Sands BE, Schnell P, Yacyshyn BR, Colombel JF, Bernhardt CA, Sandborn WJ. The Impact of Clinical Information on the Assessment of Endoscopic Activity:

- Characteristics of the Ulcerative Colitis Endoscopic Index Of Severity [UCEIS]. *J Crohns Colitis*. 2015 Aug;9(8):607-16.
259. Taghvaei T, Maleki I, Nagshvar F, Fakheri H, Hosseini V, Valizadeh SM, et al. Fecal calprotectin and ulcerative colitis endoscopic activity index as indicators of mucosal healing in ulcerative colitis. *Intern Emerg Med* 2015; 10: 321-8.
260. Theede K, Holck S, Ibsen P, Ladelund S, Nordgaard-Lassen I, Nielsen AM. Level of fecal calprotectin correlates with endoscopic and histologic inflammation and identifies patients with mucosal healing in ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 1929-36.
261. Sipponen T, Kolho K. Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2010; 45: 872–877.
262. De Vos M, Dewit O, D'Haens G, Baert F, Fontaine F, Vermeire S, et al. Fast and sharp decrease in calprotectin predicts remission by infliximab in anti-TNF naïve patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2012; 6: 557–562.
263. Molander P, Af Björkesten C, Mustonen H, Haapamäki J, Vauhkonen M, Kolho K, et al. Fecal calprotectin concentration predicts outcome in inflammatory bowel disease after induction therapy with TNF α blocking agents. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18:2011–2017.
264. Ho G, Lee H, Brydon G, Ting T, Hare N, Drummond H, et al. Fecal calprotectin predicts the clinical course of acute severe ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 209;104:673–678.
265. Theede K, Kiszka-Kanowitz M, Mertz Nielsen A, Nordgaard-Lassen, I. The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity

- index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. *Scand J Gastroenterol.* 2014; 49: 418–423.
266. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. Emerging role of calprotectin in gastroenterology. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:756–762.
267. García-Sánchez V, Iglesias-Flores E, González R, Gisbert JP, Gallardo-Valverde JM, González-Galilea A, et al. Does fecal calprotectin predict relapse in patients with Crohn’s disease and ulcerative colitis? *J Crohn Colitis.* 2010;4:144–152.
268. D’Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Benazzato L, Martinato M, Lamboglia F, et al. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol.* 2008;103:2007–2014.
269. Kallel L, Ayadi I, Matri S, Fekih M, Mahmoud NB, Feki M, et al. Fecal calprotectin is a predictive marker of relapse in Crohn’s disease involving the colon: a prospective study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010;22:340–345.
270. Mooiweer E, Severs M, Schipper ME, Fidder HH, Siersema PD, Laheij RJ, Oldenburg B. Low fecal calprotectin predicts sustained clinical remission in inflammatory bowel disease patients: a plea for deep remission. *J Crohns Colitis.* 2015 Jan;9(1):50-5.
271. Casellas F, Borruel N, Antolín M, Varela E, Torrejón A, Armadans L, et al. Fecal excretion of deoxyribonucleic acid in long-term follow-up of patients with inactive ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13:386–390.
272. Walkiewicz D, Werlin SL, Fish D, Scanlon M, Hanaway P, Kugathasan S. Fecal calprotectin is useful in predicting disease relapse in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14:669-73.
273. Diamanti A, Colistro F, Basso M, Papadato B, Francalanci P, Bracci F, et al. Clinical role of calprotectin assay in determining histological relapses in

- children affected by inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2008; 14: 229–1235.
274. Louis E, Mary J, Vernier-Massouille G, Grimaud J, Bouhnik Y, Laharie D, et al. Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology.* 2012; 142:63–70.
275. Mao R, Xiao Y, Gao X, Chen B, He Y, Yang L, et al. Fecal calprotectin in predicting relapse of inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of prospective studies. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:1894–1899.
276. Elkjaer M, Burisch J, Voxen Hansen V, Deibjerg Kristensen B, Slott Jensen JK, Munkholm P. A new rapid home test for fecal calprotectin in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; 31:323-30.
277. Weber J, Ueberschlag ME, Prica M, Kräuchi S, Reinhard C, Jermann T. Validation of a smartphone-based patient monitoring system measuring Calprotectin as the therapy follow-up marker. Poster 273 presented at: 10th Congress of ECCO - European Crohn's and Colitis Organisation; 2015 February 18-21; Barcelona, Spain.
278. Reinhard C, Weber J, Niederberger C, Perretta F. Usability study of a smartphone-based patient monitoring system measuring Calprotectin for therapy follow-up. Poster 452 presented at: 10th Congress of ECCO - European Crohn's and Colitis Organisation; 2015 February 18-21; Barcelona, Spain.
279. Naismith GD, Smith LA, Barry SJ, Munro JI, Laird S, Rankin K, Morris AJ, Winter JW, Gaya DR. A prospective single-centre evaluation of the intra-individual variability of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013 Mar;37(6):613-21.

280. Srivastava S, Kedia S, Kumar S, Mouli VP, Dhingra R, Sachdev V, Tiwari V, Kurrey L, Pradhan R, Ahuja V. Serum human trefoil factor 3 is a biomarker for mucosal healing in ulcerative colitis patients with minimal disease activity. *J Crohns Colitis*. 2015;9(7):575-9.
281. Rutter M, Saunders B, Wilkinson K, et al. Severity of inflammation is a risk factor for colorectal neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2004;126:451–459.
282. Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011;140:1817–1826.e1812.
283. Osada T, Ohkusa T, Okayasu I, et al. Correlations among total colonoscopic findings, clinical symptoms, and laboratory markers in ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23(suppl 2):S262–S267.
284. Watanabe C, Sumioka M, Hiramoto T, et al. Magnifying colonoscopy used to predict disease relapse in patients with quiescent ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2009;15(11):1663–1669.
285. Jauregui-Amezaga A, López-Cerón M, Aceituno M, Jimeno M, Rodríguez de Miguel C, Pinó-Donnay S, Zabalza M, Sans M, Ricart E, Ordás I, González-Suárez B, Cuatrecasas M, Llach J, Panés J, Pellise M. Accuracy of Advanced Endoscopy and Fecal Calprotectin for Prediction of Relapse in Ulcerative Colitis: A Prospective Study. *Inflamm Bowel Dis*. 2014 Jul;20(7):1187-93.
286. Kiesslich R, Duckworth CA, Moussata D, et al. Local barrier dysfunction identified by confocal laser endomicroscopy predicts relapse in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2012;61:1146–1153.