

# Неинвазивные маркёры активности воспалительных заболеваний кишечника

А. В. Никитин, Л. В. Васильева, А. А. Матюхин

ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко» Минздрава РФ, г. Воронеж, Российская Федерация  
Воронежская областная клиническая больница № 1, г. Воронеж, Российская Федерация

## Noninvasive markers of inflammatory bowel disease activity

A.V. Nikitin, L.V. Vasilyeva, A.A. Matiukhin

State educational state-funded institution of higher professional education «Burdenko Voronezh state medical academy», Ministry of healthcare of the Russian Federation, Voronezh, the Russian Federation  
Voronezh regional hospital No. 1, Voronezh, the Russian Federation

**Цель исследования.** Изучить особенности неинвазивных маркёров активности воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) и оценить корреляцию между различными методами исследования для оценки клинико-эндоскопической активности язвенного колита (ЯК) и болезни Крона (БК).

**Материал и методы.** В исследование было включено 67 человек с ЯК и БК, у которых определялась клиническая и эндоскопическая активность заболевания с гистологическим исследованием биоптатов. Проводилось исследование цитокинов крови — ИЛ-4, ИЛ-8, фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и кальцийсвязывающего белка кала (кальпротектина).

**Результаты.** Концентрация кальпротектина и ФНО- $\alpha$  значительно выше у пациентов с высокой активностью заболевания и протяженностью воспалительного процесса. Коэффициент корреляции Спирмена между эндоскопическими параметрами и показателями фекального кальпротектина (0,82) выше у пациентов с ЯК, чем между эндоскопическими параметрами и ФНО- $\alpha$  (0,78) у пациентов с БК.

**Aim of investigation.** To study noninvasive activity markers of inflammatory bowel diseases (IBD) and to estimate correlation between various diagnostic methods for an assessment of clinical and endoscopic activity of ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD).

**Material and methods.** Original study included 67 patients with UC and CD in whom clinical and endoscopic activity of the disease with assessed by histological investigation of biopsy specimens. Blood serum cytokines: IL-4, IL-8, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and fecal calcium - binding protein (calprotectin) were assessed.

**Results.** Fecal calprotectin and TNF- $\alpha$  levels were much higher in patients with high disease activity and extent of inflammatory process. Spearman correlation coefficient between endoscopic features and fecal calprotectin (0,82) was higher in the UC patients, than between endoscopic parameters and TNF- $\alpha$  (0,78) in CD patients.

**Conclusions.** Noninvasive inflammatory activity markers should be taken into account and decision-making

**Никитин Анатолий Владимирович** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко»

**Васильева Людмила Валентиновна** — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой Института дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко»

**Матюхин Анатолий Андреевич** — соискатель кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко». Контактная информация: matiuhin-doc@yandex.ru; 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10.

**Matiukhin Anatoly A.** — MD degree student, chair of internal diseases propedeutics, State educational state-funded institution of higher professional education «Burdenko Voronezh state medical academy». Contact information: matiuhin-doc@yandex.ru; 394036, Voronezh, Studencheskaya Str., 10.

Получено: 07.06.2015 / Received: 07.06.2015

**Выводы.** При выборе тактики обследования и лечения следует учитывать неинвазивные маркеры активности воспалительного процесса и осуществлять диагностический поиск без применения дорогостоящих инвазивных процедур.

**Ключевые слова:** воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, интерлейкины, кальпротектин.

on diagnostic and treatment strategy, as well as to decrease expensive and invasive diagnostic procedures.

**Key words:** inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis, Crohn's disease, interleukins, calprotectin.

**Для цитирования:** Никитин А.В., Васильева Л.В., Матиухин А.А. Неинвазивные маркеры активности воспалительных заболеваний кишечника. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2016; 26(6):106-111  
DOI: 10.22416/1382-4376-2016-6-106-111

**For citation:** Nikitin A.V., Vasilyeva L.V., Matiukhin A.A. Noninvasive markers of inflammatory bowel disease activity. Ross z gastroenterol gepatol koloproktol 2016; 26(6):106-111 (In Russ.)  
DOI: 10.22416/1382-4376-2016-6-106-111

**Б**лезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК) являются двумя основными и наиболее распространенными формами *воспалительного заболевания кишечника* (ВЗК). Данная группа заболеваний характеризуется неуправляемыми иммунными реакциями в пределах желудочно-кишечного тракта. Клиническое течение и локализация воспалительных изменений, прогноз и тактика лечения определяются для каждого соответствующего заболевания.

Несмотря на многолетние исследования, точные причины ВЗК еще сравнительно плохо изучены, тем не менее очевидно, что многие факторы, включая генетические и эпигенетические предрасположенности (нарушение кишечной микрофлоры, лекарственное воздействие, травмы или их отдаленные последствия), вносят существенный вклад в течение болезни [1].

Важнейшим признаком активного воспалительного процесса является миграция нейтрофилов через кишечный эпителий. Существует несколько путей миграции лейкоцитов в зону воспаления: за счет высвобождения хемокина IL-8, хемоаттрактанта PEEC и миграции при помощи  $\beta 2$  интегринов CD11b/CD18 на поверхности нейтрофилов или п-формил пептида на поверхности апикального эпителия и нарушения плотного контакта на границе апикальной и базолатеральной мембран колоноцитов [2, 27].

Координированное заживление слизистой оболочки при ВЗК определяется глубиной поражения, регуляцией иммунной системы, накоплением и активацией лейкоцитов в зоне поражения и репаративно-восстановительными процессами [3].

В настоящее время одной из ключевых точек терапии пациентов с ВЗК является достижение устойчивого клинического эффекта с заживлением слизистой оболочки, отсутствием контактной кровоточивости по результатам эндоскопического исследования, уменьшением частоты рецидивов, хирургических вмешательств, снижение риска колоректального рака [4].

В активную фазу заболевания слизистая оболочка толстой кишки отечная, гиперемированная, с контактной кровоточивостью; сосудистый рисунок смазан, при контакте с эндоскопом отмечаются диффузная ранимость слизистой, подслизистые кровоизлияния и выраженная кровоточивость. Эрозии покрыты слизисто-гнойным налетом с некротическими массами и могут поражать активные зоны воспаления [6].

Гистологические признаки заболевания остаются «золотым стандартом» и определяющими в оценке активности воспалительного процесса и выборе дальнейшей тактики терапии.

Гистологические изменения толстой кишки ограничиваются слизистой оболочкой и поверхностными участками подслизистого слоя. Нарушение архитектоники и наличие лимфоплазмноклеточных инфильтратов с увеличением мононуклеарных клеток в *lamina propria*, появление нейтрофилов в просвете крипт свидетельствуют о преклиническом течении заболевания [5].

Нейтрофильный инфильтрат в просвете крипт не является патогномоничным признаком ВЗК и может проявляться при колите другой этиологии (инфекционной, вирусной, грибковой, ишемическом поражении кишечника и др.) [9].

Характерным признаком язвенного колита служит нарушение архитектоники крипт с атрофией слизистой и развитием островоспалительного процесса, наличием в основании крипт единичных или множественных клеток Панета. Изолированные крипт-абсцессы с чередованием нормальных крипт более типичны для болезни Крона [24].

Гистологически выделяют следующие степени активности язвенного колита:

0 — только изменение архитектоники без избытка воспалительных клеток;

1 — признаки хронического воспаления в *lamina propria*;

2 — нейтрофильная инфильтрация *lamina propria*;

3 — проникновение нейтрофилов в эпителиальную выстилку;

4 — деструкция крипт;

5 — эрозии и язвы.

Оценка периферической крови часто используется в качестве диагностического инструмента для ряда разнообразных заболеваний и состояний — от применения общего анализа крови и подсчета лейкоцитарной формулы до современных генетических исследований с применением дорогостоящего оборудования и реактивов [17]. В настоящее время нет ни одного лабораторного показателя крови, при помощи которого можно установить диагноз ВЗК. Существуют вспомогательные диагностические методы, дающие возможность на ранней стадии определить активность и риск воспалительного процесса в толстой кишке.

Появляется все больше неинвазивных маркеров, позволяющих на раннем этапе выявлять ВЗК, проводить дифференциальную диагностику с функциональной патологией кишки и осуществлять динамическое наблюдение [7, 8].

В нашем исследовании мы оценили возможность использования цитокинов крови (определение ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ ) и кальцийсвязывающего белка кала (*фекального кальпротектина* — ФК) в качестве диагностического инструмента [10].

Цитокины и хемокины играют важную роль в активности процесса при ВЗК, что доказано эффективностью антицитокиновой терапии [11]. ФНО- $\alpha$  — один из первых цитокинов, который участвует в формировании воспалительного иммунного ответа после презентации антигена [12]. ИЛ-4 — Th2 поляризирующий цитокин, производный CD4+ Т-клеток, проявляющих большое количество регулирующих функций в кишечной слизистой [14, 15]. ИЛ-8 — хемоаттрактант для инфильтрирующих гранулоцитов, моноцитов и лимфоцитов [13].

Кальпротектин — кальцийзависимый белок, находящийся в цитоплазме нейтрофилов, присутствие которых в кале свидетельствует о воспалении стенки кишки, и, следовательно, данный белок можно считать «биомаркером фекального воспаления» [16]. Белок медленно разлагается протеазами микроорганизмов, стабилен в образцах кала менее 5 граммов при комнатной температуре в течение до 7 суток, что делает актуальным его определение в диагностических целях [29]. Для взрослых чувствительность метода составляет 0,93 (0,85–0,97), специфичность 0,96 (0,79–0,99), а для детей и подростков соответственно 0,92 (0,84–0,96) и 0,76 (0,62–0,86) [25].

## Материал и методы исследования

Данное исследование выполнялось в специализированном медицинском центре ВОКБ № 1

в период с 2010 по 2013 г. Все больные подписали информированное согласие на его проведение.

В исследование включали взрослых пациентов с установленным диагнозом язвенного колита и болезни Крона, которым осуществлялась илеоколоноскопия с определением эндоскопической активности заболевания и последующим гистологическим исследованием биопсийного материала. Исключались лица, у которых диагностировались сопутствующее аутоиммунное заболевание, активный инфекционный процесс, выявлялись антитела к гепатиту С, имелся сероположительный результат при определении поверхностного антигена к вирусу гепатита В, отмечались положительные результаты иммуноферментного анализа на ВИЧ, RW, злокачественные новообразования, ранний послеоперационный период после хирургических вмешательств на толстой, подвздошной кишке.

Для включения в исследование скрининговому обследованию подверглись 114 человек, из них 67 с воспалительными заболеваниями кишечника. В соответствии с ранее описанными критериями отбора больные были разделены на две группы: I группа — с язвенным колитом (48), II группа — с болезнью Крона (19).

Средний возраст в группе пациентов с ВЗК составил  $39,8 \pm 2,4$  года. Среди больных ЯК 58,3% (28 человек) дебют заболевания отметили в возрасте 23–37 лет, среди больных с БК 52,6% (10 человек) — в возрасте 22–28 лет. Из анамнеза известно, что у 5 пациентов с язвенным колитом (10,4%) один из родителей страдал данным заболеванием, а у 4 пациентов с болезнью Крона (21,1%) ею страдали близкие родственники.

В группе больных ЯК регулярно курили 18 (37,5%), при этом имели стаж курения свыше 5 лет. *Индекс курящего человека* (ИКЧ) у этих пациентов составил  $108 \pm 9,1$ , что является высоким достоверным фактором риска. Среди пациентов с БК регулярно курили 9 (47,4%), ИКЧ у них был также высоким ( $112,3 \pm 10,2$ ).

Современная классификация язвенного колита включает ряд особенностей: выраженность клинических и эндоскопических проявлений, распространенность воспалительного процесса, характер его течения [20]. В наших наблюдениях тяжесть течения ЯК оценивалась по критериям, предложенным Truelove и Witts в 1955 г. и дополненным профессорами М. Х. Левитаном и Е. А. Белоусовой с учетом частоты стула, лихорадки, тахикардии, снижения массы тела и лабораторных показателей (уровня гемоглобина, СОЭ, содержания С-реактивного белка, лейкоцитов) [22].

Активность БК определялась при помощи индекса Беста (СДАИ) и считалась положительной при величине  $>150$  [18, 19]. Тяжесть атаки оценивалась в баллах с учетом клинических и лабораторных данных. При расчете индекса Беста учитывали, что значение его  $<150$  соответству-

Таблица 1

Распределение больных язвенным колитом ( $n=48$ ) и болезнью Крона ( $n=19$ ) в зависимости от степени тяжести атаки, абс. число (%)

Степень тяжести атаки	Больные ЯК	Больные БК
Легкая	11 (22,9)	4 (21,0)
Среднетяжелая	23 (47,9)	10 (52,6)
Тяжелая	14 (29,2)	5 (26,3)

Таблица 2

Характеристика больных язвенным колитом в зависимости от протяженности поражения кишечника ( $n=48$ )

Протяженность поражения	Количество больных, абс. число (%)
Дистальный колит (проктосигмоидит)	26 (54,2)
Левосторонний колит	12 (25,0)
Тотальный колит	10 (20,8)

Таблица 3

Распределение пациентов с болезнью Крона ( $n=19$ ) в зависимости от распространенности поражения

Распространенность поражения	Количество больных, абс. число (%)
Илеит	4 (21,0)
Колит	3 (15,8)
Илеоколит	6 (31,6)
Парапроктит	3 (15,8)
Верхний отдел ЖКТ	1 (5,3)
Тотальное поражение	2 (10,5)

ет ремиссии, от 150 до 300 — легкому течению и минимальной активности заболевания, от 300 до 450 — средней степени тяжести и >450 — тяжело-му течению и высокой активности процесса [28].

Полученные данные приведены в табл. 1–3. Как было установлено, тяжелая степень атаки при ЯК отмечалась у 14 пациентов (29,2%) с тотальным или субтотальным поражением толстой кишки и постоянно рецидивирующим характером течения заболевания (см. табл. 1).

Всем больным проводилось эндоскопическое исследование на видеосистеме фирмы «OLYMPUS EVIS EXERA II CV-180» (CLV-180) с применением биопсийных щипцов EndoJaw с овальными браншами и иглой для фиксирования инструмента при биопсии, с оценкой активности воспалительного процесса по шкале D. Rachmilevitz (1989). Выполнялась лестничная биопсия от 4–6 фрагментов слизистой оболочки, учитывая макроморфологическую картину толстой, подвздошной кишки. Каждый биоптат помещался в отдельный флакон с фиксирующей жидкостью (10% нейтральный формалин, забуференный по Лилли) и был доставлен в лабораторию в течение 1 часа после забора материала.

## Результаты исследования и их обсуждение

По результатам эндоскопического исследования толстой кишки были выявлены морфологические изменения воспалительного характера — гиперемия (у 96,8 и 98,7% больных ЯК и БК соответственно), отек (87,4 и 88,5%), стертость сосудистого рисунка (82,1 и 80,4%), признаки дефекта слизистой оболочки — контактная ранимость (72,3 и 75,8%), язвенно-эрозивные повреждения и афты (88,3 и 54,7%). Сегментарные сужения просвета кишки наблюдались у 68,5% больных БК.

При исследовании концентрации цитокинов в сыворотке крови с помощью тест-систем «Quantikine R&D systems» (США) уровень ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  у всех пациентов достоверно ( $p<0,05$ ) превышал предельно допустимые значения (табл. 4). Хотелось бы отметить, что повышение содержания ИЛ-4 было достоверно меньшим при БК — до 3,4 (3,0; 3,6) нг/л, чем при ЯК — до 4,2 (3,8; 4,4) нг/л. Примерно одинаковой была концентрация ИЛ-8, достоверно превышая референтные значения — 12,8 (11,8; 13,0) мг/мл и 13,1 (12,7; 13,4) мг/мл соответственно [23]. Уровень ФНО- $\alpha$  был достоверно высокий в обеих группах с преобладанием при БК — 64,8 (59,7; 67,4) нг/мл и 30,7 (26,4; 33,8) нг/мл соответственно [21, 26].

В данном исследовании изучена связь клинической, эндоскопической активности ВЗК с биомаркерами (серологическими и фекальным): установлена положительная корреляция фекального

Таблица 4

Содержание цитокинов в сыворотке крови обследованных больных

Показатель, нг/мл	ВЗК ( $n=67$ )	ЯК ( $n=48$ )	БК ( $n=19$ )
ИЛ-4	3,8 (3,4; 4,2)	4,2 (3,8; 4,4)	3,4 (3,0; 3,6)
ИЛ-8	12,9 (11,7; 4,2)	12,8 (11,8; 13,0)	13,1 (12,7; 13,4)
ФНО- $\alpha$	42,5 (40,4; 45,4)	30,7 (26,4; 33,8)	64,8 (59,7; 67,4)

Таблица 5

Корреляция силы связи между эндоскопическими показателями активности язвенного колита и различными биомаркерами

Поражение	Коэффициент корреляции Спирмена			
	ИЛ-4	ИЛ-8	ФНО- $\alpha$	ФК
Дистальное	0,52	0,40	0,36	0,48
Левостороннее	0,59	0,47	0,49	0,71
Тотальное	0,67	0,52	0,72	0,82

Таблица 6

Корреляция силы связи между эндоскопическими показателями активности болезни Крона и различными биомаркерами

Поражение	Коэффициент корреляции Спирмена			
	ИЛ-4	ИЛ-8	ФНО- $\alpha$	ФК
Легкое	0,34	0,45	0,36	0,48
Средней степени тяжести	0,36	0,47	0,59	0,51
Тяжелое	0,49	0,58	0,78	0,72

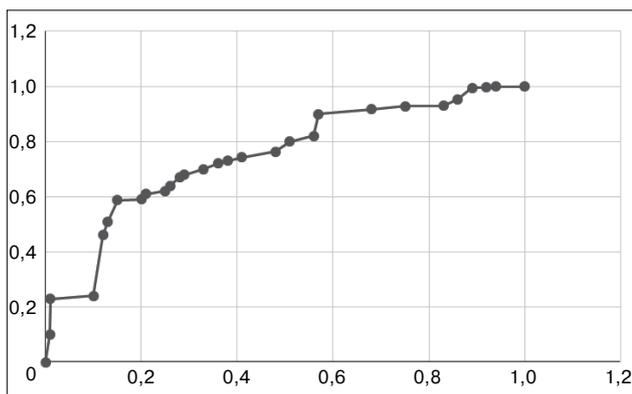


Рис. 1. Характеристическая кривая для прогноза активности болезни Крона

Fig. 1. The characteristic curve for the Crohn's disease activity prognosis.

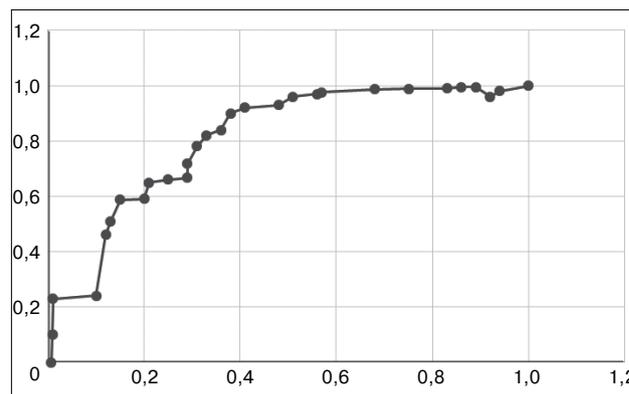


Рис. 2. Характеристическая кривая для прогноза активности язвенного колита

Fig. 2. The characteristic curve for the ulcerative colitis activity prognosis.

биомаркера с эндоскопическими показателями активности язвенного колита и болезни Крона. Наиболее высокие диапазоны фекального кальпротектина отмечены у пациентов с тотальным поражением толстой кишки и тяжелой степенью язвенного колита (табл. 5 и 6).

Характеристическая кривая для прогноза активности болезни Крона для модели, содержащей ФНО- $\alpha$ , площадь под кривой соответствует 76%, представлена на рис. 1.

Характеристическая кривая для прогноза активности язвенного колита для модели, содержащей кальпротектин, площадь под кривой соответствует 80%, представлена на рис. 2.

## Выводы

Результаты изучения параметров клинической и эндоскопической активности язвенного колита и болезни Крона показали низкую корреляцию.

У пациентов с ВЗК концентрация фекального кальпротектина зависит от протяженности поражения и активности воспалительного процесса.

ФНО- $\alpha$  положительно коррелирует с эндоскопической и клинической активностью ВЗК и может использоваться в качестве неинвазивного маркера активности воспалительного процесса

Необходимо использовать несколько биомаркеров для подбора терапии и динамического наблюдения у пациентов с симптомами заболевания кишечника.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

#### Список литературы / References

1. Abraham C., Cho J.H. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361:2066-78.
2. Abreu-Martin M.T., Vidrich A., Lynch D. Divergent induction of apoptosis and IL-8 secretion in IT-29 cell in response to TNF- $\alpha$  and ligation of Fas antigen. *Text. J Immunol* 1995; 155:4147-54.
3. Autschbach F., Schürmann G., Quio L., Mertz H., Wallich R., Meuer S.C. Cytokine messenger RNA expression status of intestinal mononuclear cells in noninflamed gut and Crohn's disease. *Virchows Arch* 1995; 426: 51-60.
4. Bayley J.P., Ottenhoff T.H., Verweij C.L. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun* 2004; 5:315-29.
5. Bowie A.G., O'Neill L.A.J. Vitamin C inhibits NF- $\kappa$ B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Immunol* 2000; 165(12):7180-8.
6. Camilleri M. Chronic diarrhea: a review on pathophysiology and management for the clinical gastroenterologist. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 198-206.
7. Cellier C., Sahnoud T., Froguel E., et al. Correlations between clinical activity, endoscopic severity, and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. A prospective multicentre study of 121 cases. *Gut* 1994; 35:231-5.
8. Cezard J.P., Munck A., Mouterde O., Morali A., Lenaerts C., Lachaux A., Turck D., Schmitz J., Maurage C., Girardet J.P., et al. Prevention of relapse by mesalazine (Pentasa) in pediatric Crohn's disease: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33:31-40.
9. Chen Q., Ross A.C. Retinoic acid regulates cell cycle progression and cell differentiation in human monocytic THP-1 cells. *Exp Cell Res* 2004; 297:68-81.
10. Conlon K., Lloyd A., Chattopadhyay U., Lukacs N., Kunkel S., Schall T. CD8+ and CD45 RA+ human peripheral blood lymphocytes are potent sources of macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$ , interleukine-8 and Rantes. *Eur J Immunol* 1995; 25:751-6.
11. Ebisawa M., Yamada T., Bickel C., Klunk D., Schleimer R.P. Eosinophil transendothelial migration induced by cytokines. Effects of the chemokine Rantes. *J Immunol* 1994; 153:2153-9.
12. Fais S., Capobianchi M.R., Silvestri M., Mercuri F., Pallone F., Dianzani F. Interferon expression in Crohn's disease patients: Increased interferon- $\gamma$  and  $\alpha$  mRNA in the intestinal lamina propria mononuclear cells. *J Interferon Cytokine Res* 1994; 14:235-8.
13. Feldmann M., Elliott M.J., Woody J.N., Maini R.N. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy of rheumatoid arthritis. *Adv Immunol* 1997; 61:283-350.
14. Ford A.C., Kane S.V., Khan K.J., Achkar J.P., Talley N.J., Marshall J.K., Moayyedi P. Efficacy of 5-aminosalicylates in Crohn's disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 617-29.
15. Gaur P., Mittal M., Mohanti B., Das S. Functional variants of IL4 and IL6 genes and risk of tobacco-related oral carcinoma in high-risk Asian Indians. *Oral Dis* 2011; 17:720-6.
16. Geering B., Stoeckle C., Conus S., Simon H.-U. Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. *Trends Immunol* 2013; 34(8):398-409.
17. Guy-Grand D., DiSanto J.P., Henchoz P., Malassis-Seris M., Vassalli P. Small bowel enteropathy: role of intraepithelial lymphocytes and of cytokines (IL-12, IFN-gamma, TNF) in the induction of epithelial cell death and renewal. *Eur J Immunol* 1998; 28:730-44.
18. Hanauer S.B., Strömberg U. Oral Pentasa in the treatment of active Crohn's disease: A meta-analysis of double-blind, placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2:379-88.
19. Härtel C., Strunk T., Bucsky P., Schultz C. Effects of vitamin C on intracytoplasmic cytokine production in human whole blood monocytes and lymphocytes. *Cytokine* 2004; 27(4-5):101-6.
20. Kane S.V., Sandborn W.J., Rufo P.A., et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1309-14.
21. Marfaing-Koka A., Devergne O., Gorgone G., et al. Regulation of the production of the Rantes chemokine by endothelial cells. Synergistic induction by IFN-gamma plus TNF-alpha and inhibition by IL-4 and IL-13. *J Immunol* 1995; 154:1870-8.
22. Moskovitz D.N., Daperno M., van Assche G.A. Defining and validating cut-offs for the simple endoscopic score for Crohn's disease. *Gastroenterology* 2007; 132:1097.
23. Nakashima H., Miyake K., Inoue Y., Shimizu S., Akahoshi M., Tanaka Y., Otsuka T., Harada M. Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population. *Genes Immun* 2002; 3:107-9.
24. Poullis A., Zar S., Sundaram K., et al. A new, highly sensitive assay for C-reactive protein can aid in the differentiation of inflammatory bowel disorders from constipation and diarrhea-predominant functional bowel disorders. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:409-12.
25. Roseth A.G., Aadland E., Jahnson J., et al. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion* 1997; 58:176-80.
26. Roseth A.G., Fagerhol M.K., Aadland E., et al. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:793-8.
27. Rot A., Krieger M., Brunner T., Bischoff S.G., Schall T.J., Dahinden C.A. Rantes and macrophage inflammatory protein 1  $\alpha$  induce the migration and activation in normal human granulocytes. *J Exp Med* 1992; 176:1489-95.
28. Tibble J.A., Sigthorsson G., Foster R., et al. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology* 2002; 123:450-60.
29. Wallace K.L., Zheng L.B., Kanazawa Y., Shih D.Q. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20:6-21.