

# Przydatność biomarkerów w ocenie aktywności nieswoistych chorób zapalnych jelit – wskazówki praktyczne

## The utility of biomarkers in the assessment of the inflammatory bowel disease activity – practical issues

Piotr Eder

Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Szpital Kliniczny im. Heliodora Świącickiego w Poznaniu

### Streszczenie

Diagnostyka nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ) jest złożonym procesem obejmującym zarówno badania laboratoryjne, obrazowe, jak i endoskopowe. W ostatnich latach nastąpił istotny postęp zwłaszcza w zakresie możliwości nieinwazyjnego diagnozowania i monitorowania aktywności NChZJ za pomocą wielu biomarkerów. Obok parametrów powszechnie znanych, takich jak białko C-reaktywne, istnieje także grupa tak zwanych kopromarkerów, których najważniejszy przedstawiciel to kalprotektyna. W niniejszym opracowaniu przedstawiono charakterystykę wybranych biomarkerów, które znajdują zastosowanie w codziennej praktyce klinicznej. Szczególną uwagę poświęcono najbardziej przydatnemu biomarkerowi – kalprotektynie, omawiając jednak także pewne ograniczenia tego badania laboratoryjnego.

Słowa kluczowe: aktywność zapalenia, białko C-reaktywne, biomarkery, kalprotektyna w kale, nieswoiste choroby zapalne jelit

Przedrukowano za zgodą z: Gastroenterologia Kliniczna 2018; 10 (2): 52–63

### Wstęp

Diagnostyka nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ), do których zalicza się chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChLC) oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG; *colitis ulcerosa*), jest złożona i obejmuje wiele badań dodatkowych [1]. Część z nich stanowią procedury inwazyjne. Przykładem mogą być gastroskopia czy ileokolonoskopia z pobraniem wycinków do badania histopatologicznego. Badania te – zwłaszcza endoskopowa ocena jelita grubego i krętego – stanowią kluczowy element, niezbędny do postawienia właściwej diagnozy. Dodatkowo, według aktualnej wiedzy, wydaje się, że metody te są najbardziej przydatne do monitorowania NChZJ. Wykazano między innymi, że zjawisko gojenia śluzówkowego (mucosal healing), oceniane endoskopowo,

ma dużą czułość w prognozowaniu długofalowego przebiegu ChLC i WZJG [2]. Inną ważną grupę badań diagnostycznych stanowią metody radiologiczne, takie jak rezonans magnetyczny (RM) czy tomografia komputerowa (TK) – zwłaszcza w opcji enterografii lub enteroklyzy. I diagnostyka obrazowa, i endoskopowa, mają jednak wiele ograniczeń. Wynika to z jednej strony z ich inwazyjnego charakteru (dotyczy to endoskopii), z drugiej zaś – z kosztów, które generują [1, 3]. Dlatego stale poszukuje się badań pozbawionych tych wad, które jednak charakteryzowałyby się podobną przydatnością diagnostyczną. Stąd wynika nieustające zainteresowanie tak zwanymi biomarkerami, czyli parametrami biochemicznymi, oznaczanymi we krwi lub kale [3].

W pewnym uproszczeniu biomarkery można podzielić na takie, które są pomocne w prognozowaniu przebiegu

NChZJ czy w różnicowaniu ChLC z WZJG, oraz na takie, które służą do oceny aktywności choroby. W pierwszej grupie znajdują się między innymi markery immunologiczne (np. przeciwciała przeciw drożdżom piekarskim [ASCA, *anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*] oraz przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych [pANCA, *anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies*]) oraz niektóre badania genetyczne. Do drugiej grupy – będącej przedmiotem niniejszego opracowania – zalicza się tak zwane białka ostrej fazy (BOF), niektóre cytokiny i kopromarkery [3].

Celem pracy jest omówienie praktycznego zastosowania biomarkerów w ocenie aktywności NChZJ, ze zwróceniem uwagi na ich przydatność diagnostyczną, a także na ich ograniczenia i wady.

## Biomarkery oceniane we krwi

Wśród biomarkerów, oznaczanych we krwi, istnieje wiele parametrów, których przydatność diagnostyczna w ocenie aktywności NChZJ została potwierdzona. Należy tutaj wymienić elementy składowe morfologii krwi obwodowej, takie jak leukocytoza czy liczba płytek krwi [4]. Zróżnicowaną grupę biomarkerów stanowią także BOF, których stężenie rośnie (dodatnie BOF) lub maleje (ujemne BOF) w odpowiedzi na bodziec prozapalny. Szczególnie bogato reprezentowana jest pierwsza podgrupa, w skład której wchodzi takie parametry, jak między innymi białko C-reaktywne (CRP, *C-reactive protein*), fibrynogen, ferrytyna, haptoglobina, prokalcytonina czy rzadziej oznaczane –  $\alpha$ 1-antytrypsyna czy plazminogen. Do ujemnych BOF zalicza się na przykład albuminę czy transferynę. Najwięcej danych w odniesieniu do NChZJ dotyczy CRP [4, 5].

### Białko C-reaktywne

Białko C-reaktywne jest syntetyzowane w wątrobie. W warunkach fizjologicznych jest obecne w surowicy w niewielkich stężeniach (zwykle  $< 1$  mg/l). Pod wpływem reakcji zapalnej wartości te mogą jednak wzrosnąć kilkudziesięcio- lub kilkusetkrotnie [6]. Głównym bodźcem do syntezy CRP są cytokiny prozapalne, takie jak interleukina-6 (IL-6), czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor alpha*) czy IL-1 $\beta$ . Ważną z praktycznego punktu widzenia cechą tego biomarkera jest jego okres półtrwania, który wynosi 19 godzin. Oznacza to, że wzrostu stężenia CRP można się spodziewać zwykle w kolejnej dobie od momentu pojawienia się zapalenia. Podobnie – często obserwowanym zjawiskiem jest dalsze zwiększanie się stężenia CRP we wczesnej fazie poprawy klinicznej chorego z NChZJ po zastosowanym leczeniu [5, 6].

Wykazano w wielu badaniach, że CRP może być pomocne w identyfikowaniu pacjentów z aktywną postacią NChZJ. Białko to względnie dobrze koreluje także z aktywnością endoskopową choroby czy nawet nasileniem zmian histolo-

gicznych w błonie śluzowej jelita grubego. Istnieją również dowody na to, że wczesny spadek stężenia CRP w wyniku zastosowanego leczenia biologicznego stanowi pozytywny marker, prognozujący długotrwałą odpowiedź na leczenie [5, 6]. Pomimo wielu niekwestionowanych zalet, oznaczanie CRP ma także wiele ograniczeń. Najważniejszym z nich wydaje się brak swoistości dla NChZJ, jako że wartości CRP mogą być podwyższone w przypadku stanu zapalnego o innej lokalizacji, w wielu chorobach autoimmunizacyjnych, infekcjach, po urazie, w przebiegu nowotworów czy nawet w chorobach układu sercowo-naczyniowego. Co więcej, wymienione na wstępie tego podrozdziału zalety omawianego biomarkera dotyczą zwłaszcza ChLC, a w mniejszym stopniu WZJG, gdzie nierzadko stężenie CRP bywa prawidłowe, pomimo aktywnego zapalenia w jelicie grubym [5–7]. Z punktu widzenia patofizjologicznego przyczyną takiego stanu rzeczy może być mniej wyrażona ogólnoustrojowa reakcja immunologiczna we WZJG, w porównaniu z ChLC, co wyraża się między innymi niższymi wartościami stężeń IL-6 w colitis ulcerosa. Nie zawsze jednak obserwuje się nawet wśród chorych na ChLC adekwatne do nasilenia zmian chorobowych stężenia CRP. Taka sytuacja częściej dotyczy pacjentów z izolowanymi zmianami chorobowymi w jelicie cienkim. Innym potencjalnym wytłumaczeniem różnej przydatności oznaczania CRP u poszczególnych chorych jest polimorfizm genetyczny, warunkujący „zdolność” wątroby do syntezy CRP pod wpływem bodźca prozapalnego, co zostało wykazane głównie w odniesieniu do chorób układu sercowo-naczyniowego [8].

W podsumowaniu tej części pracy należy podkreślić, że pomimo wielu mankamentów, CRP nadal pozostaje najważniejszym biomarkerem ocenianym we krwi, zwłaszcza w ChLC. Biorąc pod uwagę relatywnie niską cenę tego badania oraz dobrą przydatność w odzwierciedlaniu aktywności NChZJ, parametr ten powinien być stosowany rutynowo w codziennej praktyce klinicznej.

### Kopromarkery – kalprotektyna

Kopromarkery, czyli białka oznaczane w kale, w znacznym stopniu zmieniły możliwości diagnostyczne chorób zapalnych przewodu pokarmowego w ostatnich latach. Istotnymi zaletami tych biomarkerów jest bardzo dobra przydatność w monitorowaniu aktywności NChZJ oraz brak inwazyjności i prostota metodologii oznaczania. Badania te wraz z ich postępującą popularyzacją, stają się także coraz tańsze. Spośród wielu kopromarkerów, takich jak kalprotektyna, laktoferyna, mieloperoksydaza, białko S100A12, najwięcej badań i doświadczeń dotyczy pierwszego ze wskazanych parametrów [9–11]. W dalszej części pracy przedstawiono charakterystykę kalprotektyny, ze szczególnym uwzględnieniem praktycznych korzyści, a także ograniczeń związanych ze stosowaniem tego kopromarkera.

**Tabela 1.** Propozycja interpretacji wyniku oznaczania kalprotektyny w kale w zależności od profilu klinicznego pacjenta

Stężenie kalprotektyny w kale	Interpretacja wyniku oznaczania kalprotektyny w kale	
	Pacjent z nowymi objawami (biegunka, ból brzucha) o nieznannej etiologii	Pacjent z rozpoznaną NChZJ
< 50 µg/g	Choroba organiczna bardzo mało prawdopodobna, diagnostyka endoskopowa niewskazana	Remisja choroby
50–250 µg/g	W pierwszej kolejności wyklucz inne, niż NChZJ, możliwe odwracalne przyczyny objawów (leki, infekcja itp.). W przypadkach wątpliwych wskazana diagnostyka endoskopowa	Remisja choroby. Zazwyczaj brak wskazań do dalszej diagnostyki. Powtórz oznaczenie za ok. 4 tygodnie, jeśli pozwala na to sytuacja kliniczna
> 250 µg/g	Choroba organiczna bardzo prawdopodobna — po wykluczeniu przyczyny infekcyjnej, wskazana diagnostyka endoskopowa	Wskazana dalsza diagnostyka, a w przypadku jednoznacznego obrazu klinicznego — rozważ intensyfikację terapii

NChZJ — nieswoiste choroby zapalne jelit

### Charakterystyka biologiczna kalprotektyny

Kalprotektyna, należąca do rodziny białek S100, wchodzi w skład ziarnistości cytoplazmatycznych granulocytów obojętnochłonnych, a w mniejszym stopniu — komórek linii monocytarnej. Informacja ta ma ważne implikacje praktyczne, ponieważ z jednej strony tłumaczy, dlaczego stężenie tego kopromarkera koreluje z aktywnością stanu zapalnego w przewodzie pokarmowym, a z drugiej — jakie mogą być inne niż NChZJ przyczyny wzrostu stężenia kalprotektyny w kale. Inną ważną cechą omawianego kopromarkera jest jego duża stabilność biologiczna. Według niektórych opracowań nie ulega on rozkładowi w temperaturze pokojowej nawet do 7 dni [12].

Szczegółowa biologiczna funkcja kalprotektyny nie jest w pełni poznana. Wiadomo że posiada zdolności wiązania jonów wapnia i cynku, co w znacznym stopniu tłumaczy jej właściwości bakteriostatyczne i grzybobójcze [12]. Uważa się również, że może odgrywać rolę czynnika chemotaktycznego w reakcji zapalnej oraz stymulować syntezę immunoglobulin. Wyniki badań ostatnich lat pokazują także, że współuczestniczy w bardzo ciekawym, niedawno opisanym zjawisku tak zwanej NETozy (*NETosis*), będącym elementem nieswoistej odpowiedzi immunologicznej [13]. Proces ten polega na dezintegracji błony komórkowej neutrofilów oraz dekondensacji DNA w reakcji na zakażenie i na uwolnieniu do przestrzeni pozakomórkowej zawartości cytoplazmy, która przy udziale białek cytosolowych, w tym kalprotektyny, tworzy swego rodzaju pułapkę dla komórek bakteryjnych, grzybów oraz wirusów (stąd pochodzi nazwa tego zjawiska — *neutrophil extracellular trap* [NET]) [13].

### Praktyczne zastosowanie kalprotektyny w NChZJ — co już wiemy?

Istnieje kilka sytuacji klinicznych w NChZJ, w których przydatność diagnostyczna kalprotektyny nie budzi żadnych wątpliwości. Po pierwsze — badanie to może być pomocne już na wstępnym etapie diagnostyki biegunki i bólu brzucha o niejasnej etiologii [10–12, 14]. Jako że objawy te są niezwykle częste, najważniejszym z prak-

tycznego punktu widzenia pytaniem pozostaje to, czy ich przyczynę stanowią zaburzenia organiczne (np. NChZJ) i czy istnieje konieczność przeprowadzenia inwazyjnej diagnostyki endoskopowej. Zastosowanie kalprotektyny ułatwia podjęcie takiej decyzji. Za wartość graniczną uważa się najczęściej stężenie poniżej 50 µg/g kału [9–11]. W jednej z największych metaanaliz w tym zakresie wykazano, że wartość ta charakteryzuje się 93-procentową czułością i 94-procentową swoistością w różnicowaniu zespołu jelita nadwrażliwego (ZJN) i NChZJ [15]. Jednocześnie pozytywna wartość predykcyjna testu wahała się istotnie między 0,2 a 1,0, podczas gdy negatywna wartość predykcyjna była względnie stabilna i wynosiła 0,73–1,0. Autorzy konkludują więc, że przyjęcie takiej wartości granicznej wiąże się ze znikomym ryzykiem przeoczenia NChZJ, ponieważ prawdopodobieństwo obecności zapalenia w przewodzie pokarmowym przy stężeniu omawianego biomarkera poniżej 50 µg/g jest bardzo niskie (tab. 1) [15, 16]. Z kolei wykazanie wyższych stężeń i wykonanie w dalszym etapie kolonoskopii może skutkować tym, że pewna część chorych z zaburzeniami czynnościowymi będzie niepotrzebnie poddana inwazyjnej diagnostyce endoskopowej. Dlatego większość aktualnych rekomendacji, dotyczących zastosowania kalprotektyny w różnicowaniu czynnościowych zaburzeń przewodu pokarmowego z NChZJ sugeruje, żeby za wartość, powyżej której niezbędne jest poszerzenie badań o ocenę endoskopową w przypadku objawów o nieznannej etiologii, uznać 250 µg/g [10, 17]. Natomiast w przypadku wykrycia stężenia kalprotektyny 50–250 µg/g, należy szczegółowo przeanalizować możliwość występowania innych niż NChZJ przyczyn nieznacznego wzrostu wydalania tego biomarkera ze stolcem. Jeśli prawdopodobieństwo choroby organicznej będzie nadal wysokie (brak wytłumaczalnej, innej, przejściowej przyczyny, jak infekcja, stosowane leki itp.), należy wykonać kolonoskopię. W innym przypadku — jeśli pozwala na to sytuacja kliniczna — można powtórzyć badanie po okresie kilku tygodni, ponownie oceniając wskazania do inwazyjnej diagnostyki. Taka strategia z jednej strony daje szansę na uniknięcie części niepotrzebnie wykonywanych

kolonoskopii u pacjentów z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego, a z drugiej — praktycznie eliminuje ryzyko nierozpoznania NChZJ u chorych z obecnością aktywnego stanu zapalnego [15–17].

Kolejnym niebudzącym wątpliwości zastosowaniem tego kopromarkera jest ocena aktywności już rozpoznanej choroby z kręgu NChZJ. W wielu badaniach wykazano, że stężenie kalprotektyny w kale bardzo dobrze koreluje z nasileniem zmian endoskopowych w ChLC, ocenianych indeksem *Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity* (CDEIS) czy *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease* (SES-CD), a także we WZJG poprzez porównanie na przykład ze skalą *Mayo* [10, 18–20]. Większość danych wskazuje również na to, że stężenie kalprotektyny dobrze koreluje z najczulszymi BOF oraz z nasileniem anemii czy liczbą płytek krwi [10, 16]. Co ciekawe, wydaje się że biomarker ten może w znacznym stopniu odzwierciedlać nowo zdefiniowane zjawisko — tak zwanej remisji histologicznej, która polega na regresji nie tylko zmian makroskopowych, ale także mikroskopowych [18, 21]. Biorąc jednak właśnie pod uwagę rozmaite definicje remisji NChZJ, przyjmuje się adekwatnie do tego różne zakresy wartości referencyjnych kalprotektyny w kale, różnicujących aktywną i nieaktywną postać NChZJ. Interpretacja wyniku badania może więc być nieco odmienna niż w odniesieniu do pacjentów, którzy nie mają jeszcze postawionego rozpoznania ChLC czy WZJG. Wydaje się bowiem, że uzasadnione jest bardziej liberalne podejście do tak zwanej górnej wartości referencyjnej stężenia kalprotektyny w kale u chorego z jednoznacznie zdiagnozowaną NChZJ [16, 17]. Wynika to na przykład z prac wskazujących, że stężenie powyżej 250 µg/g ma największą przydatność w prognozowaniu aktywnej endoskopowo choroby. W przypadku wartości granicznych, czyli 50–250 µg/g, wskazane są dalsza obserwacja i ewentualne powtórzenie oznaczenia za kilka tygodni, jeśli pozwala na to sytuacja kliniczna (tab. 1) [16, 17, 22]. Nie ma zazwyczaj na tym etapie potrzeby wdrażania diagnostyki endoskopowej. Dopiero stężenie powyżej 250 µg/g powinno wzmocnić czujność diagnostyczną, jako że prawdopodobieństwo istotnej aktywności NChZJ jest zwiększone, nawet w przypadku braku nasilonych objawów klinicznych [22]. Natomiast jeśli celem leczenia jest jedynie remisja histologiczna, za wartość graniczną należy przyjąć stężenia niższe niż 250 µg/g (np. 50 µg/g) [16]. Takie postępowanie wydaje się racjonalne, a w sytuacjach wątpliwych (wartości graniczne) szczególnie poleca się powtarzanie oznaczeń kalprotektyny w kale [22].

Biorąc pod uwagę bardzo dobrą przydatność oznaczania kalprotektyny w kale w ocenie aktywności NChZJ, kolejnym praktycznym zastosowaniem tego badania jest nadzór i ocena efektywności stosowanej terapii. Powszechnie wiadomo bowiem, że uwzględnianie jedynie aktywności klinicznej ChLC czy WZJG to zdecydowanie za mało, aby móc wiarygodnie oszacować rzeczywisty wpływ wdrożonego

leczenia na nasilenie procesu zapalnego w przewodzie pokarmowym. Natomiast powtarzanie w krótkim czasie badań endoskopowych czy obrazowych jest nieuzasadnione, co zostało omówione we wprowadzeniu do niniejszego opracowania. Istnieje natomiast wiele dowodów na to, że regularne monitorowanie stężenia kalprotektyny w kale może z dużą czułością odzwierciedlać nie tylko gojenie śluzówki, ale także gojenie śródścienne (a więc dotyczące głębszych niż błona śluzowa warstw jelita) w ChLC czy gojenie tkankowe (oceniane metodami histologicznymi) [9, 16, 22].

### Potencjalne zastosowanie kalprotektyny w NChZJ — czego oczekujemy?

Istnieje także kilka potencjalnych, dobrze udokumentowanych zastosowań oznaczania kalprotektyny w kale w NChZJ, które jak dotąd nie zyskały jednoznacznej, usankcjonowanej oficjalnymi zaleceniami aprobaty. Jednym z takich zastosowań jest przewidywanie zaostrzenia u pacjentów pozostających w remisji. Jak wiadomo, jawne klinicznie pogorszenie przebiegu NChZJ jest bowiem zazwyczaj zjawiskiem, do którego dochodzi po pewnym czasie stopniowego nasilania się aktywności zmian zapalnych w przewodzie pokarmowym. Okres ten trwa najczęściej od kilku tygodni do kilku miesięcy i jest zwykle bezobjawowy lub skąpoobjawowy. Dlatego monitorowanie w sposób ciągły stanu chorego poprzez okresowe, powtarzane oznaczenia kalprotektyny w kale (proponowana częstotliwość — na przykład co 3 miesiące), daje szansę na wykrycie początków tego procesu [22]. W jednej z najlepiej metodologicznie przeprowadzonych w tym zakresie analiz, Molander i wsp. [23] badali przydatność kalprotektyny w prognozowaniu zaostrzenia u chorych z NChZJ w głębokiej remisji po zakończeniu terapii anty-TNF-α [23]. Badacze wykazali, że stężenia kalprotektyny wśród pacjentów, u których doszło do nawrotu objawów choroby, były istotnie wyższe, natomiast stabilne utrzymywanie się wartości prawidłowych — niemal zawsze równoznaczne z długotrwałym utrzymaniem remisji klinicznej i endoskopowej. Obliczono, że wartość powyżej omawianego biomarkera powyżej 200 µg/g charakteryzowała się 50-procentową czułością i 83-procentową swoistością w prognozowaniu zaostrzenia NChZJ w ciągu kolejnych 2–4 miesięcy. W innej analizie, pochodzącej z badania *Stop Infliximab in Patients With Crohn's Disease* (STORI), dotyczącej chorych z ChLC, u których zaprzestano terapii infliksymabem, stwierdzono, że stężenie kalprotektyny w kale powyżej 300 µg/g stanowiło jeden z najsłabszych czynników predykcyjnych zaostrzenia choroby w ciągu roku obserwacji [24]. Takich badań jest znacznie więcej i trudno wskazać jednoznacznie wartość progową omawianego biomarkera, która powinna być dla lekarza jednoznacznym sygnałem alarmowym. Wydaje się, że bardziej kluczowa jest dynamiczna w czasie obserwacji fluktuacji stężeń kalprotektyny w kale [25]. Jeśli u chorego bez objawów klinicznych zostaną wykazane utrzymujące

się w co najmniej dwóch oznaczeniach podwyższone stężenia kalprotektyny w kale, konieczne jest poszerzenie diagnostyki o badania obiektywizujące aktywność zapalenia w przewodzie pokarmowym. Należy w tym miejscu także podkreślić, że w niektórych ośrodkach sam fakt narastania tego stężenia jest uznawany za wystarczający argument za zmianą prowadzonej terapii [10, 26]. W polskich warunkach, a także w wielu innych krajach, takie postępowanie nie znajduje jednak uzasadnienia lub jest niemożliwe do wdrożenia. Istnieją natomiast wystarczające dowody, by propagować okresowe oznaczanie kalprotektyny w kale u wszystkich pacjentów z NChZJ w remisji klinicznej i na tej podstawie podejmować decyzję o dalszej obserwacji lub konieczności przeprowadzenia dokładniejszej diagnostyki.

Innym ważnym problemem, w rozwiązaniu którego może pomóc zastosowanie omawianego kopromarkera, jest kwestia nadzoru pooperacyjnego u chorych z ChLC. Większość aktualnych rekomendacji zaleca, by u pacjenta po odcinkowej resekcji jelita wykonać po 6–12 miesiącach od operacji kontrolną kolonoskopię z oceną ewentualnej wznowy procesu zapalnego w miejscu zespolenia z zastosowaniem skali endoskopowej Rutgeerts [27, 28]. Takie postępowanie daje możliwość wychwycenia zwykle bezobjawowego na tym etapie nawrotu choroby, co z kolei może skutkować optymalizacją leczenia, by zapobiec dalszej progresji zapalenia. Wykonywanie jednak u każdego pacjenta inwazyjnego i kosztownego badania – kolonoskopii, nie jest powszechnie akceptowane, zwłaszcza przez samych chorych. Dlatego poszukuje się innych algorytmów nadzoru pooperacyjnego w ChLC. W tym kontekście kalprotektyna wydaje się idealnym biomarkerem. Przeprowadzono wiele badań oceniających przydatność kopromarkerów w ocenie przebiegu ChLC po odcinkowej resekcji jelita. Jedno z najciekawszych przeprowadzili badacze australijscy [29]. Zaowocowało ono propozycją alternatywnego schematu nadzoru ChLC po leczeniu chirurgicznym. Schemat ten różni się w zależności od tego, z jakim pacjentem mamy do czynienia. Jeśli nie występują istotne czynniki ryzyka nawrotu zapalenia po operacji (długotrwały, niepowikłany wywiad chorobowy, pierwsza operacja z powodu krótkoodcinkowego zwężenia przewodu pokarmowego) lub ryzyko to jest średnie (chorzy operowani w okresie < 10 lat od rozpoznania ChLC lub resekcja długoodcinkowego zwężenia przewodu pokarmowego), nie ma konieczności wykonywania kontrolnej kolonoskopii, zamiast której należy monitorować stężenie kalprotektyny w kale co 3–6 miesięcy. Diagnostyka endoskopowa jest wskazana dopiero, gdy stężenie biomarkera przekroczy określoną wartość, definiowaną w zależności od ryzyka nawrotu ChLC (ryc. 1). W schemacie tym nie zaleca się natomiast stosowania oznaczania kalprotektyny wśród chorych dużego ryzyka (chorzy z postacią przetokową ChLC oraz operowani więcej niż jeden raz) – tutaj należy stosować „klasyczny” schemat nadzoru kolonoskopowego, a w zależności od wyniku tej

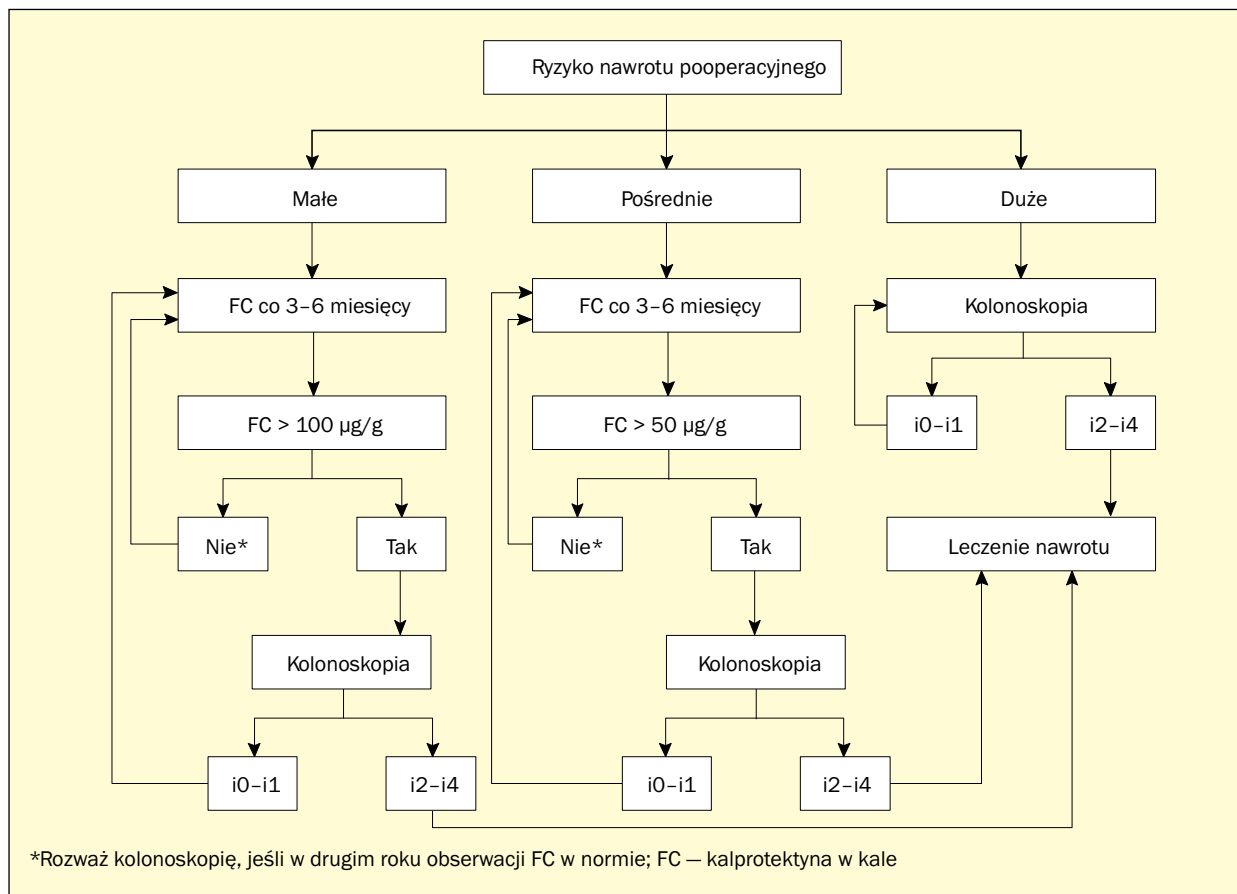
oceny konieczne jest leczenie nawrotu choroby lub powtórzenie kolonoskopii za około 12 miesięcy (ryc. 1). Autorzy badania oszacowali, że stosowanie algorytmu z użyciem kalprotektyny może zmniejszyć odsetek niepotrzebnie wykonywanych badań endoskopowych (czyli badań u chorych bez wznowy zapalenia) nawet o połowę [30]. Czy taki lub zbliżony schemat zostanie powszechnie zaaprobowany i stanie się elementem rutynowej praktyki klinicznej – obecnie nie wiadomo. Biorąc jednak pod uwagę przedstawione fakty, a także zachęcające wyniki innych badań, scenariusz taki wydaje się bardzo prawdopodobny.

### Wątpliwości i ograniczenia zastosowania kalprotektyny w NChZJ

Pomimo w pełni uzasadnionego coraz powszechniejszego stosowania kalprotektyny w diagnostyce i monitorowaniu NChZJ, istnieją pewne wątpliwości oraz pytania, dotyczące interpretacji wyników oznaczania omawianego biomarkera w kale.

#### Czy u wszystkich pacjentów z NChZJ przydatność badania jest jednakowa?

Pytanie to jest szczególnie ważne w odniesieniu do ChLC, w której lokalizacja zmian chorobowych może być zróżnicowana. Część prac sugeruje, że przydatność ta może być mniejsza wśród pacjentów z izolowanym zajęciem jelita cienkiego. Z badań Sipponen i wsp. [31] oraz Olsen i wsp. [32] wynikało, że kalprotektyna w kale ma słabą zdolność nie tylko do identyfikowania zmian zapalnych w tej części przewodu pokarmowego, ale także do wskazywania na jakąkolwiek inną patologię jelita cienkiego. Autorzy konkludowali, że małe stężenie omawianego biomarkera nie wyklucza choroby jelita cienkiego. Badaniem weryfikującym (tzw. „złotym standardem”) w tych analizach była endoskopia kapsułkowa. Istnieje jednak wiele dowodów, które przeczą tym konkluzjom. W polskim badaniu, w którym wyniki odnoszono do enterografii RM oraz ileokolonoskopii, stwierdzono że kalprotektyna istotnie koreluje z aktywnością zmian zapalnych w jelicie cienkim i jest zdecydowanie bardziej przydatna niż CRP czy inne BOF [20]. Najlepszym badaniem utwierdzającym w przekonaniu o przydatności oznaczania kalprotektyny w kale w ChLC z lokalizacją choroby w jelicie cienkim jest praca Arai i wsp. [33], w której wyniki odnoszono do aktywności choroby, ocenionej w enteroskopii za pomocą zmodyfikowanej skali mSES-CD. Autorzy wykazali bardzo dobrą zależność między kalprotektyną a mSES-CD. Tak więc wydaje się, że także u chorych z obecnością zapalenia tylko w jelicie cienkim warto posługiwać się omawianym biomarkerem. Należy jednocześnie brać pod uwagę fakt, że w niektórych sytuacjach klinicznych wynik badania nie musi idealnie odzwierciedlać nasilenia zmian chorobowych w tej części przewodu pokarmowego, ale i tak przydatność kalprotektyny w tej postaci ChLC jest znacznie większa niż innych dostępnych biomarkerów.



**Rycina 1.** Propozycja schematu nadzoru pooperacyjnego u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna z wykorzystaniem oznaczania kalprotektyny w kale. Ryzyko nawrotu po częściowej resekcji jelita szacowane jest na podstawie dotychczasowego przebiegu choroby (szczegóły w tekście). i0-i4 oznacza kolejne stopnie zaawansowania wznovy pooperacyjnej w miejscu zespolenia w skali Rutgeerts, oceniane endoskopowo [29, 30]

Istnieje również wiele danych pokazujących, że wiek pacjentów z NChZJ ma znaczenie dla interpretacji wyników oznaczania kalprotektyny w kale. Wykazano, że przepuszczalność bariery jelitowej jest fizjologicznie zwiększona u noworodków i małych dzieci [34]. Dlatego wydalanie kalprotektyny z kałem jest większe tuż po urodzeniu i stopniowo maleje wraz z wiekiem. Nie wiadomo jednoznacznie, jaka jest granica wiekowa, powyżej której interpretacja wyników omawianego kopromarkera może być taka sama jak u osób dorosłych [35]. Z kilku przeprowadzonych w tym zakresie badań wynika, że dopiero po ukończeniu 4. roku życia wartości stężeń kalprotektyny w kale u zdrowych dzieci zaczynają przypominać te odnotowywane w starszych grupach wiekowych [35].

### Jak i ile razy pobierać stolec, by pomiar był najbardziej wiarygodny?

Kolejne pytanie dotyczy tego, w jaki sposób pobierać stolec, aby pomiar był wiarygodny. Czy każde wypróżnienie jest tak samo „wartościowe” jako materiał diagnostyczny? Czy wystarczy jednokrotny pomiar, czy może konieczne jest

pobranie wielu próbek z jednego lub kilku wypróżnień? Jeden z pierwszych głosów w tej dyskusji zabrali autorzy badania, Naismith i wsp. [36], którzy dokonali porównania stężeń kalprotektyny z wypróżnień, pochodzących z trzech kolejnych dni w grupie 143 pacjentów z ChLC w remisji [36]. Okazało się, że zmienność wyników była niewielka, a współczynnik zgodności (ICC, *interclass correlation coefficient*) wyniósł 0,84 (95% CI [*confidence interval*]: 0,79–0,89). Z kolei Lason i wsp. [37] przeprowadzili podobną, nieco bardziej złożoną, bardzo ciekawą analizę w odniesieniu do WZJG [37]. Uczestnicy badania przez 2 dni pobierali po dwie próbki kału z każdego wypróżnienia. Następnie każdorazowo dokonywano oceny stężenia kalprotektyny. Okazało się, że wartość ICC w odniesieniu do wyników kalprotektyny zmierzonych w dwóch różnych próbkach, pochodzących z tego samego wypróżnienia była wysoka (0,79; 95%CI: 0,48–0,9). Oznacza to, że nie ma istotnego znaczenia, z jakiej części oddanego przez pacjenta stolca zostanie pobrany materiał do badania. Porównując natomiast dobową zmienność stężeń kalprotektyny (czyli wyniki

pomiarów, pochodzących z różnych wypróżnień w ciągu dnia), wykazano że istnieje pewna rozbieżność wyników. Rozbieżność ta była tym większa, im wyższe odnotowywano stężenia. Autorzy składowali, że zaobserwowane zjawisko jest warte zauważenia, ale najprawdopodobniej ma małe znaczenie praktyczne. Jeśli bowiem odnotowuje się istotne różnice stężeń kalprotektyny, ale każdy z pomiarów i tak wykracza znacznie ponad górną wartość referencyjną (np. dwa pomiary: 1000 µg/g i 2500 µg/g), to i tak w obu przypadkach oznacza on dużą aktywność zapalenia i wymaga dalszych działań diagnostyczno-terapeutycznych. Inne praktyczne obserwacje, wynikające z omawianego badania, to takie że im dłuższy odstęp czasu między wypróżnieniami oraz im bardziej luźny stolec, tym stężenia kalprotektyny były istotnie wyższe. Ponadto stwierdzono, że przechowywanie stolca w temperaturze pokojowej powyżej 3 dni może wpływać negatywnie na przydatność diagnostyczną badania (stężenia omawianego biomarkera maleją, by w 7 dni osiągnąć nawet 30% wartości wyjściowej). W podsumowaniu pracy zasugerowano więc, by dokonywać pomiarów kalprotektyny zawsze w próbce pochodzącej z pierwszego wypróżnienia w ciągu dnia oraz żeby nie zwlekać z dostarczeniem materiału diagnostycznego do laboratorium [37]. Podobną metodykę badania zastosowali autorzy kanadyjscy, uzyskując jednak nieco inne wyniki. Potwierdzili nie tylko zmienność stężeń kalprotektyny w kale pomiędzy różnymi wypróżnieniami, fluktuującą między 13% a 26%, ale także zmienność pomiarów w różnych próbkach z tego samego wypróżnienia – rzędu 8–23% [38]. Rozrzut tych wartości zależał w największym stopniu od przyjmowanych odmiennych punktów odcięcia dla nieprawidłowego stężenia biomarkera. W ostatecznej konkluzji uznano, że najlepiej oznaczać kalprotektynę w kale w próbce z pierwszego wypróżnienia w ciągu dnia, a za górną wartość referencyjną należy uznać stężenie 250 µg/g.

### Jakie znaczenie ma metoda oznaczania kalprotektyny?

Istnieje wiele metod oznaczania kalprotektyny w kale [39]. Zdecydowanie preferowane powinny być metody ilościowe, umożliwiające dokładną ocenę stężenia biomarkera. Najczęściej stosowane są techniki immunoenzymatyczne – głównie ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Pewnym jej ograniczeniem jest konieczność zebrania odpowiedniej liczby próbek materiału diagnostycznego, aby móc przeprowadzić analizę. Tak więc często nie ma możliwości natychmiastowego uzyskania wyniku badania. Dlatego w ostatnich latach nastąpił rozwój alternatywnych technik – chemiluminescencyjnych czy immunoturbidymetrii, które umożliwiają wykonanie oznaczenia w pojedynczej próbce kału [39, 40]. Istnieje także przyłóżkowy zestaw do oceny stężenia kalprotektyny, dzięki któremu można uzyskać wynik w możliwie najkrótszym

czasie [41]. W tym miejscu pojawia się jednak pytanie, czy można stosować wskazane powyżej techniki zamiennie i czy pomiary są porównywalne. Dane w tym obszarze są różnorodne. Dla przykładu – w pracy autorów brytyjskich podjęto próbę porównania zgodności oznaczeń kalprotektyny w kale w tej samej próbce z zastosowaniem 4 różnych, komercyjnie dostępnych zestawów detekcyjnych, opartych na metodzie ELISA [17]. Wykazano względnie stałą rozbieżność w uzyskiwanych stężeniach biomarkera. Autorzy byli nawet w stanie przedstawić swoistą „klasyfikację” badanych zestawów, wskazując na te, za pomocą których uzyskiwane wartości kalprotektyny są największe i najmniejsze. Porównując jednak uzyskane wyniki wśród chorych z NChZJ z pacjentami z ZJN, wykazano w odniesieniu do wszystkich zestawów bardzo dobrą przydatność diagnostyczną w różnicowaniu zaburzeń czynnościowych i organicznych. Natomiast w pracy Moniuszki i wsp. [41] stwierdzono, że przyłóżkowa metoda oznaczania kalprotektyny dobrze koreluje z techniką ELISA [41]. Wydaje się zatem, że wartość praktyczna dostępnych testów diagnostycznych jest dobra, niemniej jednak w związku z coraz powszechniejszą dostępnością tego badania, istnieje konieczność standaryzacji metod oznaczania omawianego biomarkera. Co więcej, pomimo wielu proponowanych punktów odcięcia dla wartości kalprotektyny, które należy uznać za nieprawidłowe, nie ma jednoznacznych danych, które umożliwiałyby ujednoczenie sugerowanych norm laboratoryjnych.

### Inne niż NChZJ przyczyny wzrostu stężenia kalprotektyny w kale

Interpretując wyniki kalprotektyny w kale nie należy zapominać o tym, że NChZJ nie są jedyną przyczyną wzrostu stężenia tego kopromarkera [42, 43]. Zwiększeniem wydalania kalprotektyny z kałem mogą skutkować zwłaszcza choroby, w przebiegu których obserwuje się obecność nacieków neutrofilowych (głównie infekcje, niektóre nowotwory) w ścianie przewodu pokarmowego (tab. 2).

### Podsumowanie

W podsumowaniu należy jeszcze raz zaznaczyć, że diagnostyka NChZJ jest procesem złożonym. W ostatnich latach nastąpił istotny postęp zwłaszcza w zakresie nieinwazyjnych możliwości oceny aktywności ChLC i WZJG. Z dostępnych biomarkerów w powszechnym użyciu jest wiele badań krwi, a największą przydatnością cechuje się CRP. Niezwykle pomocnym badaniem w diagnozowaniu i monitorowaniu przebiegu NChZJ jest kalprotektyna w kale, należąca do grupy kopromarkerów. Badanie to, jak każde inne, ma pewne ograniczenia, które należy brać pod uwagę, interpretując poszczególne wyniki [16, 44]. Zgodnie z dostępną aktualnie wiedzą, ocena stężenia kalprotektyny

**Tabela 2.** Przyczyny wzrostu stężenia kalprotektyny w kale

Możliwy znaczny wzrost stężenia kalprotektyny w kale	NChZJ, choroby infekcyjne przewodu pokarmowego, nowotwory przewodu pokarmowego, stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych, choroba uchyłkowa jelita grubego (zwłaszcza powikłana)
Możliwy umiarkowany wzrost stężenia kalprotektyny w kale	Marskość wątroby, mikroskopowe zapalenie jelita grubego, nieleczone celiakia i inne enteropatie, stosowanie inhibitorów pompy protonowej, choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy, zapalenie błony śluzowej żołądka, choroba refluksowa przełyku z zapaleniem przełyku, wiek < 4. rż., alergia pokarmowa, zespół bakteryjnego rozrostu jelita cienkiego
Możliwe, wątpliwe przyczyny wzrostu stężenia kalprotektyny w kale	Otyłość, podeszły wiek, aktywność fizyczna, dieta ubogobłonnikowa

NChZJ – nieswoiste choroby zapalne jelit

**Tabela 3.** Sytuacje kliniczne, w których oznaczenie kalprotektyny w kale nie jest wskazane

1. Nie ma potrzeby oznaczania kalprotektyny w kale w przypadku ostrej biegunki, zwłaszcza jeśli nie współistnieją objawy alarmowe. W większości przypadków etiologia jest infekcyjna, a biegunka ma charakter samoograniczający
2. Wskazaniem do oznaczenia kalprotektyny może być przewlekanie się objawu lub obecność krwi w kale, jednak w takiej sytuacji nie należy zaniechać diagnostyki mikrobiologicznej
3. Nie ma potrzeby oznaczania kalprotektyny w kale w przypadku biegunki, jeśli współwystępują objawy alarmowe. Konieczna jest wówczas dalsza diagnostyka, w tym zazwyczaj – ocena endoskopowa
4. Nie należy oznaczać kalprotektyny u osób z nowymi objawami gastroenterologicznymi (biegunka, ból brzucha) powyżej 45.-50. roku życia, nawet jeśli nie współwystępują objawy alarmowe. W takiej sytuacji konieczna jest dalsza diagnostyka, w tym zazwyczaj ocena endoskopowa
5. Nie ma potrzeby oznaczania kalprotektyny w kale, jeśli istnieje podejrzenie mikroskopowego zapalenia jelita grubego. Konieczne jest wówczas wykonanie kolonoskopii z pobraniem materiału do analizy histopatologicznej
6. Nie ma potrzeby oznaczania kalprotektyny w kale u wszystkich chorych ze zdiagnozowanym i potwierdzonym Kryteriami Rzymskimi zespołem jelita nadwrażliwego, jeśli nie stwierdzono odchyień w morfologii krwi obwodowej, stężenie białka C-reaktywnego jest prawidłowe, a badania serologiczne w kierunku celiakii – ujemne

w kale (zwłaszcza powtarzana regularnie w określonych odstępach czasu) dostarcza jednak najwięcej informacji o nasileniu procesu zapalnego w przewodzie pokarmowym, spośród wszystkich dostępnych parametrów laborato-

ryjnych i powinna być stosowana w codziennej praktyce klinicznej. W tabeli 3 wskazano natomiast najważniejsze sytuacje kliniczne, w których nie ma potrzeby oznaczania omawianego kopromarkera.

## Abstract

There are many different diagnostic modalities, used in inflammatory bowel diseases (IBD), including laboratory tests, radiological and endoscopic examinations. In the recent years we are witnessing a significant development of non-invasive diagnostic laboratory assessment by using several biomarkers. Among well known parameters, like C-reactive protein, there is an increasing interest in using fecal markers in IBD. In this paper we critically present the current knowledge in terms of the use of different biomarkers, especially fecal calprotectin, in everyday clinical practice.

Key words: biomarkers, C-reactive protein, fecal calprotectin, inflammatory activity, inflammatory bowel disease



## Piśmiennictwo

- Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2007; 133(5): 1670–1689, doi: 10.1053/j.gastro.2007.09.001, indexed in Pubmed: 17983810.
- Papi C, Fasci-Spurio F, Rogai F, et al. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: treatment efficacy and predictive factors. *Dig Liver Dis*. 2013; 45(12): 978–985, doi: 10.1016/j.dld.2013.07.006, indexed in Pubmed: 24018244.
- Lichtenstein G, McGovern D. Using Markers in IBD to predict disease and treatment outcomes: rationale and a review of current status. *The American Journal of Gastroenterology Supplements*. 2016; 3(3): 17–26, doi: 10.1038/ajgs.2016.17.
- Viennois E, Zhao Y, Merlin D. Biomarkers of inflammatory bowel disease: from classical laboratory tools to personalized medicine. *Inflamm Bowel Dis*. 2015; 21(10): 2467–2474, doi: 10.1097/MIB.0000000000000444, indexed in Pubmed: 25985250.
- Sands BE. Biomarkers of inflammation in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2015; 149(5): 1275–1285.e2, doi: 10.1053/j.gastro.2015.07.003, indexed in Pubmed: 26166315.
- Chang S, Malter L, Hudesman D. Disease monitoring in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(40): 11246–11259, doi: 10.3748/wjg.v21.i40.11246, indexed in Pubmed: 26523100.
- Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*. 2006; 55(3): 426–431, doi: 10.1136/gut.2005.069476, indexed in Pubmed: 16474109.
- Carlson CS, Aldred SF, Lee PK, et al. Polymorphisms within the C-reactive protein (CRP) promoter region are associated with plasma CRP levels. *Am J Hum Genet*. 2005; 77(1): 64–77, doi: 10.1086/431366, indexed in Pubmed: 15897982.
- Lehmann FS, Burri E, Beglinger C, et al. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease. *Ther Adv Gastroenterol*. 2015; 8: 23–36, indexed in Pubmed: 23051719.
- D'Angelo F, Felley C, Frossard JL. Calprotectin in daily practice: where do we stand in 2017? *Digestion*. 2017; 95(4): 293–301, doi: 10.1159/000476062, indexed in Pubmed: 28511188.
- Judd TA, Day AS, Lemberg DA, et al. Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011; 26(10): 1493–1499, doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06846.x, indexed in Pubmed: 21777275.
- Walsham NE, Sherwood RA. Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol*. 2016; 9: 21–29, doi: 10.2147/CEG.S51902, indexed in Pubmed: 26869808.
- Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutierrez L, et al. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview. *Front Immunol*. 2017; 8: 81, doi: 10.3389/fimmu.2017.00081, indexed in Pubmed: 28220120.
- Eder P, Stawczyk-Eder K, Krela-Kaźmierczak I, et al. Clinical utility of the assessment of fecal calprotectin in Leśniowski-Crohn's disease. *Pol Arch Med Wewn*. 2008; 118(11): 622–626, indexed in Pubmed: 19140565.
- Waugh N, Cummins E, Royle P, et al. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*. 2013; 17(55): xv–xix, 1, doi: 10.3310/hta17550, indexed in Pubmed: 24286461.
- Brookes MJ, Whitehead S, Gaya DR, et al. Practical guidance on the use of faecal calprotectin. *Frontline Gastroenterol*. 2018; 9(2): 87–91, doi: 10.1136/flgastro-2016-100762, indexed in Pubmed: 29588834.
- Whitehead SJ, Ford C, Gama RM, et al. Effect of faecal calprotectin assay variability on the management of inflammatory bowel disease and potential role of faecal S100A12. *J Clin Pathol*. 2017; 70(12): 1049–1056, doi: 10.1136/jclinpath-2017-204340, indexed in Pubmed: 28735301.
- Theede K, Holck S, Ibsen P, et al. Level of fecal calprotectin correlates with endoscopic and histologic inflammation and identifies patients with mucosal healing in ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015; 13(11): 1929–19236.e1, doi: 10.1016/j.cgh.2015.05.038, indexed in Pubmed: 26051392.
- Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, 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(1): 162–169, doi: 10.1038/ajg.2009.545, indexed in Pubmed: 19755969.
- Stawczyk-Eder K, Eder P, Lykowska-Szuber L, et al. Is faecal calprotectin equally useful in all Crohn's disease locations? A prospective, comparative study. *Arch Med Sci*. 2015; 11(2): 353–361, doi: 10.5114/aoms.2014.43672, indexed in Pubmed: 25995752.
- Zittan E, Kelly OB, Kirsch R, et al. Low fecal calprotectin correlates with histological remission and mucosal healing in ulcerative colitis and colonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016; 22(3): 623–630, doi: 10.1097/MIB.0000000000000652, indexed in Pubmed: 26829408.
- Heida A, Park KT, van Rhee PF. Clinical utility of fecal calprotectin monitoring in asymptomatic patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and practical guide. *Inflamm Bowel Dis*. 2017; 23(6): 894–902, doi: 10.1097/MIB.0000000000001082, indexed in Pubmed: 28511198.
- Molander P, Färkkilä M, Ristimäki A, et al. Does fecal calprotectin predict short-term relapse after stopping TNF $\alpha$ -blocking agents in inflammatory bowel disease patients in deep remission? *J Crohns Colitis*. 2015; 9(1): 33–40, doi: 10.1016/j.crohns.2014.06.012, indexed in Pubmed: 25052347.
- Louis E, Mary JY, Vernier-Massouille G, et al. Groupe D'etudes Thérapeutiques Des Affections Inflammatoires Digestives. Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology*. 2012; 142(1): 63–70.e5; quiz e31, doi: 10.1053/j.gastro.2011.09.034, indexed in Pubmed: 21945953.
- Louis E. Fecal calprotectin: towards a standardized use for inflammatory bowel disease management in routine practice. *J Crohns Colitis*. 2015; 9(1): 1–3, doi: 10.1093/ecco-jcc/jju012, indexed in Pubmed: 25536671.
- Lasson A, Öhman L, Stotzer PO, et al. Pharmacological intervention based on fecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study. *United European Gastroenterol J*. 2015; 3(1): 72–79, doi: 10.1177/2050640614560785, indexed in Pubmed: 25653861.
- Nguyen GC, Loftus EV, Hirano I, et al. AGA Institute Clinical Guidelines Committee. American gastroenterological association institute guideline on the management of Crohn's disease after surgical resection. *Gastroenterology*. 2017; 152(1): 271–275, doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.038, indexed in Pubmed: 27840074.
- Łodyga M, Eder P, Bartnik W, et al. Wytyczne Grupy Roboczej Konsultanta Krajowego w dziedzinie Gastroenterologii i Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dotyczące postępowania z pacjentem z chorobą Leśniowskiego-Crohna. *Prz Gastroenterol*. 2012; 7: 317–338.

29. Wright EK, Kamm MA, De Cruz P, et al. Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery. *Gastroenterology*. 2015; 148(5): 938–947.e1, doi: 10.1053/j.gastro.2015.01.026, indexed in Pubmed: 25620670.
30. Schoepfer AM, Lewis JD. Serial fecal calprotectin measurements to detect endoscopic recurrence in postoperative Crohn's disease: is colonoscopic surveillance no longer needed? *Gastroenterology*. 2015; 148(5): 889–892, doi: 10.1053/j.gastro.2015.03.022, indexed in Pubmed: 25805423.
31. Sipponen T, Haapamäki J, Savilahti E, et al. Fecal calprotectin and S100A12 have low utility in prediction of small bowel Crohn's disease detected by wireless capsule endoscopy. *Scand J Gastroenterol*. 2012; 47(7): 778–784, doi: 10.3109/00365521.2012.677953, indexed in Pubmed: 22519419.
32. Olsen PAS, Fossmark R, Qvigstad G. Fecal calprotectin in patients with suspected small bowel disease—a selection tool for small bowel capsule endoscopy? *Scand J Gastroenterol*. 2015; 50(3): 272–277, doi: 10.3109/00365521.2014.1003395, indexed in Pubmed: 25591948.
33. Arai T, Takeuchi K, Miyamura M, et al. Level of Fecal Calprotectin Correlates With Severity of Small Bowel Crohn's Disease, Measured by Balloon-assisted Enteroscopy and Computed Tomography Enterography. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017; 15(1): 56–62, doi: 10.1016/j.cgh.2016.08.015, indexed in Pubmed: 27565523.
34. Li F, Ma J, Geng S, et al. Fecal calprotectin concentrations in healthy children aged 1-18 months. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0119574, doi: 10.1371/journal.pone.0119574, indexed in Pubmed: 25742018.
35. Zhu Q, Li F, Wang J, et al. Fecal calprotectin in healthy children aged 1-4 years. *PLoS One*. 2016; 11(3): e0150725, doi: 10.1371/journal.pone.0150725, indexed in Pubmed: 26950440.
36. Naismith GD, Smith LA, Barry SJE, et al. A prospective single-centre evaluation of the intra-individual variability of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013; 37(6): 613–621, doi: 10.1111/apt.12221, indexed in Pubmed: 23347334.
37. Lasson A, Stotzer PO, Öhman L, et al. The intra-individual variability of faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2015; 9(1): 26–32, doi: 10.1016/j.crohns.2014.06.002, indexed in Pubmed: 25008478.
38. Du L, Foshaug R, Huang VW, et al. Within-stool and within-day sample variability of fecal calprotectin in patients with inflammatory bowel disease: a prospective observational study. *J Clin Gastroenterol*. 2018; 52(3): 235–240, doi: 10.1097/MCG.0000000000000776, indexed in Pubmed: 28009684.
39. Labaere D, Smismans A, Van Olmen A, et al. Comparison of six different calprotectin assays for the assessment of inflammatory bowel disease. *United European Gastroenterol J*. 2014; 2(1): 30–37, doi: 10.1177/2050640613518201, indexed in Pubmed: 24918006.
40. Kittanakom S, Shajib MdS, Garvie K, et al. Comparison of fecal calprotectin methods for predicting relapse of pediatric inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2017; 2017: 1450970, doi: 10.1155/2017/1450970, indexed in Pubmed: 28491862.
41. Moniuszko A, Gluszek S, Rydzewska G. Rapid fecal calprotectin test for prediction of mucosal inflammation in ulcerative colitis and Crohn disease: a prospective cohort study. *Pol Arch Intern Med*. 2017; 127(5): 312–318, doi: 10.20452/pamw.4009, indexed in Pubmed: 28442699.
42. Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2015; 29(3): 157–163, indexed in Pubmed: 25855880.
43. Ohlsson B, Roth B, Larsson E, et al. Calprotectin in serum and zonulin in serum and feces are elevated after introduction of a diet with lower carbohydrate content and higher fiber, fat and protein contents. *Biomed Rep*. 2017; 6(4): 411–422, doi: 10.3892/br.2017.865, indexed in Pubmed: 28413639.
44. Eder P, Stawczyk-Eder K, Łykowska-Szuber L, et al. Association between disease duration and usefulness of fecal calprotectin measurement in patients with Crohn's disease. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2013; 124(1-2): 51–57, doi: 10.20452/pamw.2079.