

Metabolomika i proteomika w diagnostyce nieswoistych chorób zapalnych jelit

Metabolomics and proteomics in the diagnosis of inflammatory bowel diseases

Magdalena Andrzejewska¹,
Paweł Dereziński²,
Zenon J. Kokot²,
Marian Grzymiśławski¹

¹Katedra i Klinika Gastroenterologii,
Dietetyki i Chorób Wewnętrznych,
Uniwersytet Medyczny

im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
²Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej
i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

STRESZCZENIE

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego i choroba Leśniowskiego-Crohna to przewlekłe choroby zapalne przewodu pokarmowego, których patogeniza jest wieloczynnikowa i nie do końca zbadana. Proces diagnostyczny prowadzący do właściwego leczenia jest często czasochłonny. Od lat trwają badania zmierzające do odkrycia wiarygodnych i minimalnie inwazyjnych testów diagnostycznych, służących do szybkiego rozpoznawania tych chorób i poprawy opieki nad pacjentami. Duże nadzieje niosą ze sobą nowe dziedziny nauki, takie jak metabolomika i proteomika, które mogą prowadzić do odkrycia nowych biomarkerów tych schorzeń. Zajmują się oceną metabolitów (metabolomika) oraz białek i peptydów (proteomika) w komórkach i tkankach, których skład zmienia się w zależności od stanu chorobowego.

(*Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2016, tom 7, nr 4, 145–151)

Słowa kluczowe: wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna, nieswoiste choroby zapalne jelit, metabolomika, proteomika

ABSTRACT

Ulcerative colitis and Crohn's disease belong to the group of inflammatory bowel diseases and are characterized by chronic inflammation of gastrointestinal tract. The pathogenesis of these conditions is multifactorial and not fully understood. The diagnostic process of inflammatory bowel diseases is often time consuming and involves many different diagnostic tests. Researchers are looking for novel diagnostic tools, that would lead to early and correct diagnosis, optimal treatment and would be possibly least invasive. Novel technologies, such as metabolomics and proteomics show great promise for future clinical use. Metabolomics involves analysis of metabolites in cells and tissues, whereas proteomics is based on the analysis protein and peptide profile, that are changing depending on underlying disease.

(*Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2016, vol. 7, no. 4, 145–151)

Key words: ulcerative colitis, Crohn's disease, inflammatory bowel diseases, metabolomics, proteomics

Adres do korespondencji:

Magdalena Andrzejewska
Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki
i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60–355 Poznań
tel./faks: 61 869 13 14
e-mail: andrzejewska.magdalena@gmail.com

Copyright © 2016 Via Medica
ISSN 2081–2450

▶▶ NChZJ to przewlekłe schorzenie układu pokarmowego, przebiegające z okresami zaostrzeń i remisji ◀◀

▶▶ Proces diagnostyczny NChZJ jest złożony i obejmuje oceny: kliniczną, endoskopową, histopatologiczną, radiologiczną oraz badania laboratoryjne ◀◀

WSTĘP

Nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ) to przewlekłe schorzenia układu pokarmowego, przebiegające z okresami zaostrzeń i remisji. Wyróżnia się dwa główne podtypy tych chorób: wrzodziejące zapalenie jelita grubego (łac. *colitis ulcerosa*) i chorobę Leśniowskiego-Crohna (łac. *morbus Crohn*). Wrzodziejące zapalenie jelita grubego to rozlany proces zapalny błony śluzowej odbytnicy lub odbytnicy i okrężnicy, zawsze ograniczający się jednak do jelita grubego. W części przypadków prowadzi do rozwoju owrzodzeń. Proces chorobowy szerzy się przez ciągłość, od końcowego odcinka jelita w kierunku proksymalnym. U około 30–50% pacjentów zajęte są odbytnica i esica, 20–30% ma postać lewostronną choroby (do zagięcia śledzionowego okrężnicy), a u kolejnych 20–30% pacjentów zajęte jest całe jelito grube (łac. *pancolitis*) [1, 2].

Chorobę Leśniowskiego-Crohna natomiast cechuje pełnościenne, najczęściej ziarniniakowe, zapalenie przewodu pokarmowego mogące obejmować każdą jego część — od jamy ustnej aż do odbytu [1]. Często zmiany zapalne występują odcinkowo, a między nimi znajduje się prawidłowy fragment jelita. W 90% przypadków zmiany chorobowe znajdują się w: samym jelicie cienkim, samym jelicie grubym lub w jelicie cienkim i grubym. Najczęstszą lokalizacją choroby jest końcowy odcinek jelita krętego (łac. *ileum terminale*) [2].

Obie te choroby łączy obecność przewlekłego procesu zapalnego w przewodzie pokarmowym, podobny obraz kliniczny, zwiększone ryzyko nowotworzenia, młody wiek w momencie zachorowania oraz wieloczynnikowe podłoże. Etiopatogeneza nieswoistych chorób zapalnych jelit nie jest do końca poznana. Istnieją doniesienia o wpływie czynników immunologicznych, genetycznych i środowiskowych na rozwój i przebieg kliniczny tych schorzeń [1, 3].

W ostatnich dziesięcioleciach obserwowano wzrost częstości występowania nieswoistych chorób zapalnych jelit. Zapadalność na wrzodziejące zapalenie jelita grubego w Europie wynosi około 10 przypadków na 100 000 osób rocznie. Szczyt zachorowań obserwuje się w wieku 20–40 lat, bez przewagi którejkolwiek płci. W przypadku choroby Leśniowskiego-Crohna zapadalność w Europie wynosi około 5 przypadków na 100 000 ludności na rok, przy szczycie zachorowań przypadającym na ludzi w wieku 15–25 lat, z niewielką przewagą kobiet [1]. Często schorzenia te są zbyt późno rozpoznawane, co odracza włączenie terapii i pogarsza przebieg choroby. Postawienie prawidłowej diagnozy niejednokrotnie przysparza trudności i wydłuża się w czasie, zarówno ze względu na niewielką dostępność wiarygodnych narzędzi diagnostycznych, jak i niespecyficzność niektórych objawów oraz różny przebieg tych chorób [4]. Ponadto, badania inwazyjne są przeciwwskazane w aktywnej fazie choroby, natomiast popularne markery stanu zapalnego oznaczane w osoczu krwi żyłnej nie są specyficzne dla NChZJ — ich wartość jest podwyższona także w innych stanach przebiegających z zapaleniem [1, 4].

METODY DIAGNOSTYCZNE W NCHZJ

Proces diagnostyczny nieswoistych chorób zapalnych jelit jest złożony i obejmuje oceny: kliniczną, endoskopową, histopatologiczną, radiologiczną oraz badania laboratoryjne [5]. „Złotym standardem” diagnostycznym jest badanie endoskopowe (kolonoskopia) z oceną histopatologiczną materiału biopsyjnego. Jest to jednak metoda inwazyjna, przeciwwskazana w okresie zaostrzenia choroby [1, 4]. Badania rentgenowskie z użyciem kontrastu mają ograniczoną wartość w diagnozowaniu NChZJ. Stosowane są głównie w ocenie jelita grubego, pozwalają też na uwidocznienie przetok (fistulografia). Badania te, podobnie jak procedury endoskopowe, są

jednak przeciwskazane w fazie zaostrzenia procesu zapalnego [1, 6]. Znacznie wyższą wartość diagnostyczną ma badanie enterografii z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego, ze względu na wysokie koszty jest to jednak nadal metoda trudno dostępna. Nadzieje na przyszłość niesie diagnostyka ultrasonograficzna jelit, nie jest to jednak jeszcze metoda dostatecznie rozpowszechniona [6].

Do dyspozycji jest też grupa badań laboratoryjnych, jak na przykład ocena stężenia białka C-reaktywnego w surowicy krwi lub pomiar OB — parametry te służą jako markery zaostrzenia choroby. Trudno jednak je wykorzystać do diagnozowania nieswoistych chorób zapalnych jelit, ponieważ ich podwyższone wartości występują także w innych stanach, którym towarzyszą procesy zapalne. Jako badanie pomocnicze przydają się również ocena morfologii i analiza biochemiczna krwi obwodowej [1].

Dostępne są też badania immunologiczne, takie jak analiza przeciwciał przeciwko antygenom cytoplazmy neutrofilów: ANCA (*anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies*), w tym okołojądrowych pANCA (*perinuclear ANCA*) najczęściej obserwowanych u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Drugim markerem immunologicznym stosowanym w diagnostyce tych chorób są przeciwciała przeciwko *Saccharomyces cerevisiae*: ASCA (*anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*), powiązane z występowaniem choroby Leśniowskiego-Crohna. Badania te są jednak mało specyficzne, ponieważ obserwuje się występowanie przeciwciał pANCA i ASCA również u zdrowych osób [7].

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono także badaniom nad stężeniem dwóch białek: kalprotektyny i laktoferryiny w stolcu. Udowodniono, że rośnie ono w fazie zaostrzenia nieswoistych chorób zapalnych jelit. Są to badania nieinwazyjne i pomocne w monitorowaniu i diagnostyce NChZJ,

nie powinny jednak służyć jako badania przesiewowe — ich wynik może być ujemny w fazie remisji lub dodatni u pacjentów zdrowych [8].

Nadal trwają prace nad odnalezieniem wiarygodnych i jak najmniej inwazyjnych testów, które mogłyby posłużyć jako narzędzie do szybkiej diagnostyki i monitorowania przebiegu NChZJ. Metabolomika i proteomika to nowe dziedziny nauki, których rozwój może pozwolić lepiej zrozumieć, diagnozować i leczyć różne jednostki chorobowe, między innymi nieswoiste choroby zapalne jelit. Dziedziny te stanowią element biologii systemowej. Ten rodzaj badań należy do tak zwanych technologii „omicznych”, wśród których wyróżnia się między innymi genomikę (ocenę genomu), transkryptomikę (ocenę mRNA), metabolomikę (ocenę metabolitów) oraz proteomikę (ocenę białek). Dzięki tym technologiom można analizować ogromną liczbę danych, dających ocenę całego genomu, metabolomu czy proteomu [9–11].

METABOLOMIKA W NCHZJ

Metabolomika jest dziedziną nauki, która bazuje na jakościowym i ilościowym oznaczaniu metabolitów w żywych komórkach, tkankach, płynach ustrojowych. Analizuje związki niskocząsteczkowe, o masie do 1,5 kDa. Metabolom to zbiór związków chemicznych powstających w komórkach, takich jak między innymi kwasy organiczne, węglowodany, lipidy, hormony. Metabolom jest dynamiczny i zmienia się w czasie [9]. Analiza metabolomiczna znajduje zastosowanie w różnych dziedzinach medycyny. Najwięcej dotychczas przeprowadzonych badań metabolomicznych w medycynie dotyczy diagnostyki chorób nowotworowych, chorób układu krążenia i cukrzycy [9, 12], ale istnieją również doniesienia o przydatności tych metod badawczych w schorzeniach przewodu pokarmowego [10, 11, 13].

►► Metabolomika jest dziedziną nauki, która bazuje na jakościowym i ilościowym oznaczaniu metabolitów w żywych komórkach, tkankach, płynach ustrojowych. Analizuje związki niskocząsteczkowe, o masie do 1,5 kDa ◀◀

▶▶ Analiza metabolomiczna surowicy krwi żyłnej może być pomocna w różnicowaniu pacjentów z NChZJ i pacjentów zdrowych, a także w diagnostyce różnicowej podtypów tych schorzeń (wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna) ◀◀

▶▶ Istnieją doniesienia na temat dysbiozy jelitowej jako jednego z czynników patogenetycznych tych schorzeń, co znajduje również swoje odzwierciedlenie w profilu metabolomicznym stolca osób chorujących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego i chorobę Leśniowskiego-Crohna ◀◀

Do metod pomiarowych stosowanych w metabolomice należą: spektrometria mas (MS, *mass spectrometry*) oraz spektroskopia jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR, *nuclear magnetic resonance spectroscopy*). Spektrometria mas może być stosowana w połączeniu z chromatografią gazową (GC, *gas chromatography*) lub cieczową (LC, *liquid chromatography*) [9–12]. Inne metody analityczne to spektroskopia fourierowska (FTIS, *Fourier infrared spectroscopy*) i elektroforeza kapilarna (CE, *capillary electrophoresis*) w połączeniu ze spektrometrią mas [10, 11]. Badania z wykorzystaniem tych technik przeprowadzane są *in vitro* i pozwalają na analizę ilościową lub jakościową dziesiątek, a nawet setek metabolitów podczas jednego badania [9]. Jednym z podejść stosowanych w metabolomice jest profilowanie metaboliczne, które pozwala uzyskać całościowy profil wszystkich małowymiarowych związków występujących w danej próbce. Związki te można następnie poddać identyfikacji [12]. W przypadku poszukiwania biomarkerów charakterystycznych dla danej choroby pobiera się próbki od pacjentów ze zdiagnozowaną już chorobą (grupa badana) i od pacjentów z grupy kontrolnej, w celu przeprowadzenia analiz porównawczych. Grupę kontrolną stanowią najczęściej osoby zdrowe, ale mogą to być też osoby z rozpoznaniem innym schorzeniem, przy wykluczeniu rozpoznania cechującego grupę badaną. Jako przykład może posłużyć porównanie pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit (grupa badana) z pacjentami, u których występują czynnościowe zaburzenia przewodu pokarmowego bez choroby organicznej (grupa kontrolna). Warto pamiętać, że obydwie te grupy muszą być dobrane pod względem wieku, płci, rasy, czy stylu życia. Materiał biologiczny stosowany w analizie metabolomicznej to między innymi surowica, osocze, mocz, ślina i kał [10–12].

Analiza metabolomiczna surowicy krwi żyłnej może być pomocna w różnicowaniu pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit i pacjentów zdrowych, a także w diagnostyce różnicowej podtypów tych schorzeń (wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna). Ponadto, może znaleźć zastosowanie w monitorowaniu przebiegu choroby (różny profil metaboliczny w okresie zaostrzenia i remisji) [2, 4, 10, 11].

Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań wykazały, że obecność nieswoistego procesu zapalnego jelit ma znaczący wpływ na profil lipidów oraz aminokwasów w surowicy krwi tych chorych [2, 11, 13]. W jednej z analiz [4] wykazano, że u pacjentów z NChZJ w okresie zaostrzenia rośnie stężenie fenyloalaniny w osoczu, natomiast spada stężenie lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low-density-lipoprotein*) i o bardzo małej gęstości (VLDL, *very-low-density-lipoprotein*) w osoczu, w porównaniu z grupą osób w okresie remisji. Z kolei w próbkach moczu pacjentów z zaostrzeniem procesu zapalnego stwierdzono wyższe stężenia glicyny oraz niższe stężenia acetylooctanu niż w grupie pacjentów będących w nieaktywnej fazie choroby [4].

W ostatnich latach podkreśla się rolę mikroflory jelitowej oraz jej wpływ na procesy immunologiczne w organizmie. Okazuje się, że zmiany w jej składzie skutkują aktywacją odpowiedzi immunologicznej w jelicie, prowadząc do przewlekłego zapalenia charakterystycznego dla nieswoistych chorób zapalnych jelit. Istnieją doniesienia na temat dysbiozy jelitowej jako jednego z czynników patogenetycznych tych schorzeń, co znajduje również swoje odzwierciedlenie w profilu metabolomicznym stolca osób chorujących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego i chorobę Leśniowskiego-Crohna [5, 10, 11]. Przeprowadzone dotychczas analizy metabolomiczne próbek kału wykazały wyższe stężenie aminokwasów oraz niższe stężenie

krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w kale pacjentów z rozpoznaniem NChZJ. Wiąże się to ze zmianą składu mikroflory jelitowej oraz zmianą jej aktywności metabolicznej w tych schorzeniach [10, 11]. Ponadto, wyższe stężenia aminokwasów w stolcu osób chorych mogą być wynikiem upośledzonego ich wchłaniania w jelicie lub też mogą być one wynikiem nasilonego katabolizmu związanego ze zwiększonym wydatkiem energetycznym potrzebnym do gojenia zmian zapalnych w jelicie [11].

Dowiedziano także, że metabolity bakterii jelitowych występują w moczu. Dlatego zmiany w mikrobiomie jelitowym pociągają za sobą zmiany w profilu metabolicznym moczu, a zatem profilowanie metabolomiczne moczu może być również wykorzystane jako narzędzie w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit [5, 11].

Istnieją także doniesienia na temat zastosowania analizy metabolomicznej powietrza wydychanego w diagnostyce i różnicowaniu nieswoistych chorób zapalnych jelit. U pacjentów z NChZJ obserwuje się większą ilość wydychanego etanu, propanu i pentanu, w porównaniu z grupą osób zdrowych [5, 14]. Udowodniono też, że pacjenci z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego wydychają więcej tlenu azotu niż pacjenci z chorobą Leśniowskiego-Crohna [15].

PROTEOMIKA W NIESWOISTYCH CHOROBAH ZAPALNYCH JELIT

Proteomika jest rozwijającą się dziedziną nauki, pokrewną do metabolomiki. Zalicza się ją również do tak zwanych metod „omicznych”. Zajmuje się analizą proteomu, czyli profilowaniem białkowo-peptydowym w komórkach i tkankach. Pozwala zrozumieć procesy zachodzące organizmach i na podstawie analizy profilu białek daje możliwość znalezienia markerów diagnostycznych w poszczególnych jednostkach chorobowych [5, 16–18]. Podobnie jak

metabolomika, proteomika może znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny, jak na przykład w onkologii czy gastroenterologii [16–18]. Najczęściej stosowana technika w analizach proteomicznych to kombinacja elektroforezy dwuwymiarowej i spektrometrii mas.

Badania proteomiczne w nieswoistych zapalnych chorobach jelit zmierzają do odkrycia biomarkerów, które pozwoliłyby lepiej i szybciej diagnozować oraz monitorować te choroby, nie narażając pacjenta na zbyt częste zabiegi endoskopowe. Analizy te zmierzają do wyodrębnienia profilu peptydowo-białkowego charakterystycznego dla osób chorych, który pozwoliłby odróżnić je od pacjentów zdrowych, a następnie do próby identyfikacji różnicujących białek lub peptydów. Badanie proteomu może również pozwolić na różnicowanie przedstawicieli obydwu podtypów tych chorób, tj. pacjentów chorujących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego od osób chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna. Biomarkery te mogłyby także pozwolić na ocenę stopnia zaostrzenia choroby, między innymi ze względu na obecność białek ostrej fazy w surowicy krwi pacjentów [16–19].

Wynik jednego z przeprowadzonych badań [19] pokazał, że analiza ilościowa fosfoproteiny (SPP24) i alfa-1-mikroglobuliny w surowicy krwi pozwala różnicować pacjentów z NChZJ od osób zdrowych. Natomiast analiza stężenia guanyliny i sekretograniny-1 pomocna była w różnicowaniu obydwu podtypów tych chorób, tj. wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna. Ponadto wykazano, że analiza ilościowa trzech spośród 4 powyższych białek: SPP4, alfa-1-mikroglobuliny i sekretograniny-1, pozwala odróżnić pacjentów z zaostrzeniem NChZJ od pacjentów w okresie remisji [19].

Metody proteomiczne mogą stać się także narzędziem do monitorowania odpowiedzi organizmu na zastosowaną terapię [16, 17].

► Badania proteomiczne w nieswoistych zapalnych chorobach jelit zmierzają do odkrycia biomarkerów, które pozwoliłyby lepiej i szybciej diagnozować oraz monitorować te choroby, nie narażając pacjenta na zbyt częste zabiegi endoskopowe ◀◀

Warto zaznaczyć, że w badaniach tych nie zawsze można polegać na oznaczaniu jednego białka lub peptydu, ale często należy się skupić na analizie kilku związków jednocześnie lub nawet całego profilu, ponieważ panel markerów często charakteryzuje się większą czułością i specyficznością w odzwierciedleniu danego stanu chorobowego [16].

Najczęściej badanym materiałem w analizach proteomicznych jest osocze. Jest to materiał najpowszechniej poddawany wszelkim analizom laboratoryjnym i łatwy do pozyskania. Wykrycie w nim biomarkerów białkowych okazuje się jednak dość trudne, ponieważ występują one w znacznie mniejszych stężeniach niż białka znajdujące się powszechnie w osoczu, jak na przykład albuminy [16, 20]. W diagnostyce i monitorowaniu przebiegu NChZJ przydatna mogłaby być także analiza proteomiczna moczu pacjentów, ze względu na różnice w ilości i składzie wydalanych białek u pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit [16, 21].

Ponadto, były też przeprowadzane analizy proteomiczne materiału tkankowego ze zmienionej zapalnie błony śluzowej jelita u pacjentów chorujących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego oraz chorobę Leśniowskiego-Crohna [16, 18]. Pierwsze tego typu badania opisali Shkoda i wsp. [22]. Udało im się zidentyfikować dziewięć białek z materiału tkankowego jelita, na podstawie których można było odróżnić zmienioną zapalnie śluzówkę w przebiegu NChZJ od śluzówki zdrowych przedstawicieli grupy kontrolnej. Badania te powinny jednak posłużyć głównie jako porównanie dla proteomu uzyskanego z osocza i poszerzenia wiedzy na temat patomechanizmu nieswoistych chorób zapalnych jelit, a nie jako metoda alternatywna dla badań histopatologicznych, tym bardziej że obie wymagają wykonania kolonoskopii. Dąży się bowiem do znalezienia testu, który byłby szybki, łatwy do przeprowadzenia i o jak najmniejszej in-

wazyjności, aby uniknąć zbędnych badań endoskopowych, obciążających chorego, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej wartości diagnostycznej.

PODSUMOWANIE

Metabolomika i proteomika to nowe, dynamicznie rozwijające się gałęzie nauki, które w przyszłości mogą odegrać znaczącą rolę w diagnozowaniu i monitorowaniu przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna. Mimo że są to schorzenia coraz powszechniejsze, proces diagnostyczny bywa długotrwały i od momentu pierwszych objawów do postawienia prawidłowej diagnozy mija zazwyczaj kilka lat. Trwają poszukiwania łatwego i minimalnie inwazyjnego testu o wysokiej wartości diagnostycznej, który mógłby posłużyć jako narzędzie do badań przesiewowych w kierunku nieswoistych chorób zapalnych jelit. Nadzieje na odnalezienie takich markerów diagnostycznych niosą nowoczesne technologie, w tym metabolomika i proteomika. Ze względu na przewlekły charakter omawianych schorzeń, pacjenci cierpiący na nie wymagają wieloletniej, dożywotniej opieki. Badania metabolomiczne i proteomiczne mogą znacznie ułatwić monitorowanie przebiegu tych chorób, służąc zarówno jako narzędzia w ocenie ciężkości choroby, jak i odpowiedzi na terapię.

PIŚMIENNICTWO:

1. Bartnik W. Wytyczne postępowania w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. Przegląd Gastroenterologiczny 2007; 2: 215–229.
2. Langholz E. Current trends in inflammatory bowel disease: the natural history. Therap. Adv. Gastroenterol. 2010; 3: 77–86.
3. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. Gastroenterology 1998; 115: 182–205.
4. Soubieres A.A., Poullis A. Emerging role of novel biomarkers in the diagnosis of inflammatory bowel disease. World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther. 2016; 7: 41–50.
5. Panes J., Bouhnik Y., Reinisch W. i wsp. Imaging techniques for assessment of inflammatory bowel disease: Joint ECCO and ESGAR evidence-based

- consensus guidelines. *J. Crohns Colitis* 2013; 7: 556–585.
6. Prideaux L., De Cruz P., Ng S.C., Kamm M.A. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm. Bowel Dis.* 2012; 18: 1340–1355.
 7. Van Rheeën PF., Van de Vijver E., Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ* 2010; 341: c3369.
 8. Słowikowska A., Toczyłowska B., Cichoń R., Hendzel P. Metabolomika — chemiczny „odcisk palca” i istotny element medycyny spersonalizowanej. *Folia Cardiologica* 2016; 11: 353–358.
 9. De Preter V., Verbeke K. Metabolomics as diagnostic tool in gastroenterology. *World J. Gastrointest. Ther.* 2013; 4: 97–107.
 10. De Preter V. Metabolomics in the clinical diagnosis of inflammatory bowel disease. *Dig. Dis.* 2015; 33 (Suppl 1): 2–10.
 11. Wojtówic W. Diagnostyka wybranych chorób cywilizacyjnych z wykorzystaniem badań metabolomicznych. *LAB* 2015; 3: 24–28.
 12. Schicho R., Shaykhtudinov R., Ngo J. i wsp. Quantitative metabolomics profiling of serum, plasma and urine by H NMR spectroscopy discriminates between patients with inflammatory bowel disease and healthy individuals. *J. Proteome Res.* 2012; 11: 3344–3357.
 13. Pelli M.A., Trovarelli G., Capodicasa E., De Medio G.E., Bassotti G. Breath alkanes determination in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Dis. Colon. Rectum* 1999; 42: 71–76.
 14. Koek G.H., Verleden G.M., Evenepoel P., Rutgeerts P. Activity related increase of exhaled nitric oxide in Crohn's disease and ulcerative colitis: a manifestation of systemic involvement? *Respir. Med.* 2002; 96: 530–535.
 15. Chan P.P., Wasinger V.C., Leong R.W. Current application of proteomics in biomarker discovery for inflammatory bowel disease. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2016; 7: 27–37.
 16. Vaiopoulou A., Gazouli M., Theodoropoulou G., Zografos G. Current advantages in the application of proteomics in inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci.* 2012; 57: 2755–2764.
 17. Yau Y., Leong R.W., Zeng M., Wasinger V.C. Proteomics and metabolomics in inflammatory bowel disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2013; 28: 1076–1086.
 18. Wasinger V.C., Yau Y., Duo X. i wsp. Low mass blood peptides discriminative of inflammatory bowel disease (IBD) severity: a quantitative proteomic perspective. *Mol. Cell Proteomics* 2016; 15: 256–265.
 19. Anderson N.L. The clinical plasma proteome: a survey of clinical assays for proteins in plasma and serum. *Clin. Chem.* 2010; 56: 177–185.
 20. Derici U., Tuncer C., Ebinc F.A. i wsp. Does the urinary excretion of alpha-1-microglobulin and albumin predict clinical disease activity in ulcerative colitis? *Adv. Ther.* 2008; 25: 1342–1352.
 21. Shkoda A., Werner T., Daniel H., Gunckel M., Rogler G., Haller D. Differential protein expression profile in the intestinal epithelium from patients with inflammatory bowel disease. *J. Proteome Res.* 2007; 6: 1114–1125.