

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 29/01/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Jéssica Nunes Pereira

**MicroRNAs como preditores de resposta clínica e
endoscópica em pacientes com doença de Crohn
tratados com adalimumabe**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Fisiopatologia em Clínica
Médica.

Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Lígia Yukie Sasaki

Coorientadora: Prof^{fa} Dr^a Ana Elisa Valencise Quaglio

Coorientadora: Prof^{fa} Dr^a Ellen Cristina Souza de Oliveira

Botucatu

2025

Jéssica Nunes Pereira

MicroRNAs como preditores de resposta clínica e
endoscópica em pacientes com doença de Crohn
tratados com adalimumabe

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Fisiopatologia em Clínica
Médica.

Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Lígia Yukie Sasaki

Coorientadora: Prof^{fa} Dr^a Ana Elisa Valencise Quaglio

Coorientadora: Prof^{fa} Dr^a Ellen Cristina Souza de Oliveira

Botucatu

2025

P436m

Pereira, Jéssica Nunes

MicroRNAs como preditores de resposta clínica e endoscópica em pacientes com doença de Crohn tratados com adalimumabe / Jéssica Nunes Pereira. -- Botucatu, 2025
53 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Ligia Yukie Sasaki

Coorientadora: Ana Elisa Valencise Quaglio

1. Doenças inflamatórias intestinais. 2. Doença de Crohn. 3.
Terapia biológica. 4. MicroRNAs. I. Título.

Registro do Impacto Esperado na Sociedade das Dissertações e Teses

Esperamos, com esse trabalho, apresentar uma nova perspectiva de investigação entre tratamento e doença ao explorarmos marcadores biológicos (microRNAs) como preditores de resposta terapêutica, tendo como objetivos a prescrição de uma terapia assertiva, a remissão da doença em tempo otimizado e a garantia da qualidade de vida do paciente.

Registration of the Expected Impact on the Society of Dissertations and Theses

This work brings a new perspective to treatment versus disease investigation through the search of biomarkers such microRNAs as predictors of therapeutic response, aiming an assertive prescription, optimization of remission of the disease and maintenance of patient's quality of life.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE JÉSSICA NUNES PEREIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 29 dias do mês de julho do ano de 2025, às 14h, no(a) Auditório do Depto. de Clínica Médica - FM/Botucatu - Unesp, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de JÉSSICA NUNES PEREIRA, intitulada **MicroRNAs como preditores de resposta clínica e endoscópica em pacientes com doença de Crohn tratados com adalimumabe**, sob orientação da Profa. Dra. Ligia Yukie Sasaki. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. LIGIA YUKIE SASSAKI (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. MARCELLO IMBRIZI RABELLO (Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Médica / FCM/Campinas - Unicamp, Profa. Dra. DANIÉLA OLIVEIRA MAGRO (Participação Presencial) do(a) Depto. de Cirurgia / FCM/Campinas - Unicamp. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Profa. Dra. LIGIA YUKIE SASSAKI

Dedico este trabalho à minha família,
que me apoiou na realização de mais
esse sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por colocar esse sonho em meu coração, abrir portas e conduzir meus passos. Toda honra e toda glória, somente a Ele.

Aos meus pais, Mauro e Denise, por sempre celebrarem minhas conquistas e me sustentarem em cada dificuldade. Agradeço por incentivarem meu crescimento e sempre estarem ao meu lado.

Ao meu irmão, Matheus. Não houve um dia sequer ao longo desses anos de doutorado em que eu não pensasse em você. Seu diagnóstico nos mostrou o quão cruel o Crohn pode ser, mas também nos mostrou o quão forte você é. Você será sempre meu exemplo de força e superação.

Ao meu noivo, Rodrigo, por ser meu porto seguro e, em meio à sua correria diária, se fazer presente, se importar com as minhas dificuldades, levantar meu ânimo e tornar tudo mais leve.

À minha orientadora, Dra. Lígia Sassaki, por me dar a chance de fazer parte da sua equipe, por estar sempre disponível e disposta a ensinar, corrigir, ajudar e ouvir. Aprender com você é um privilégio. Admiro muito a mulher e profissional que você é.

Às minhas coorientadoras, Dra. Ana e Dra. Ellen, por todo apoio nas bancadas e nas decisões a serem tomadas. Obrigada por sempre estarem prontas a me ajudar.

Aos demais colegas com os quais convivi no Ambulatório de Doença Inflamatória Intestinal, agradeço por todos os congressos, pelos momentos de descontração, pelas risadas, por compartilharem seus conhecimentos e, principalmente, por me acolherem tão bem. Desejo todo o sucesso do mundo a vocês!

À CAPES pelos recursos financeiros através do Programa de Demanda Social (bolsa) e ao CNPq pelo financiamento do estudo através da Chamada Universal.

Ao Ambulatório de Especialidades – HCFMB e ao Laboratório FitoFarmaTec – IBB, por fornecerem toda a estrutura necessária para o desenvolvimento desta pesquisa.

“Sim, coisas grandiosas fez o Senhor por nós, por isso estamos alegres.” Salmo 126:3.

(BÍBLIA SAGRADA, 2003, p. 490)

MicroRNAs como preditores de resposta clínica e endoscópica em pacientes com doença de Crohn tratados com adalimumabe.

RESUMO

A Doença de Crohn (DC) é uma Doença Inflamatória Intestinal (DII) caracterizada por processo inflamatório crônico, diagnosticada por aspectos clínicos, endoscópicos e histológicos. Anos de pesquisas focados na compreensão da doença resultaram na identificação das vias inflamatórias e citocinas envolvidas na patogenia da DII. Foram então desenvolvidas terapias biológicas que bloqueiam moléculas responsáveis pelo processo inflamatório, destacando-se o adalimumabe, medicamento que inibe a citocina TNF- α . Todavia, muitos pacientes não respondem ao tratamento da maneira esperada, e ainda apresentam efeitos colaterais. A possibilidade de prever quais pacientes responderiam ao tratamento anti-TNF pela investigação genética foi levantada e determinou-se como objetivo deste trabalho a identificação de microRNAs (miRNAs) preditores de resposta ao tratamento com adalimumabe nos pacientes com DC. **Metodologia:** Análise da expressão gênica de 92 miRNAs por *RT-qPCR* utilizando o sistema *Biomark HD (Fluidigm®, EUA)*, em amostras de biópsia intestinal armazenadas em parafina, provenientes de 18 pacientes de DC tratados com adalimumabe, que responderam (n=9) e não responderam (n=9) ao tratamento. Ambos os grupos foram identificados a partir do critério endoscópico e a resposta ao tratamento foi definida como SES-CD 0-2. **Resultados:** Identificamos nove miRNAs como possíveis preditores de resposta (*miR-27b-3p*, *miR-106a-5p*, *miR-124-3p*, *miR-135a-2-3p*, *miR-140-3p*, *miR-146a-3p*, *miR-149-3p*, *miR-758-5p* e *miR-1287-5p*). Outros 14 miRNAs tiveram suas expressões moduladas para mais expressos ou menos expressos após o tratamento em ambos os grupos (respondedor e não respondedor), sendo assim considerados biomarcadores de efeito. **Conclusão:** Prever a resposta ao tratamento é uma forma de evitar a falha terapêutica e reduzir custos e riscos de toxicidade. MiRNAs são biomarcadores promissores nesse novo contexto. Estudos mais aprofundados devem ser realizados para confirmar a aplicabilidade dessa técnica.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal. Doença de Crohn. Terapia Biológica. MicroRNA.

MicroRNAs as predictors of clinical and endoscopic response in patients with Crohn's disease treated with adalimumab.

ABSTRACT

Crohn's Disease (CD) is an Inflammatory Bowel Disease (IBD) characterized by an intense inflammatory process. Diagnosis depends on clinical, endoscopic, and histological aspects. Years of research focused on understanding the disease resulted in identifying the inflammatory pathways and cytokines involved in the pathogenesis of IBD. From these discoveries, biological therapies were developed, focused on blocking molecules responsible for the inflammatory process. Adalimumab is a drug that inhibits the cytokine TNF- α and controls the inflammatory response. However, many patients who receive this treatment do not respond as expected, and even present side effects. The possibility of predicting which patients would respond to anti-TNF therapy by genetic investigation was raised, and we defined the aim of this work as the identification of microRNAs (miRNAs) as predictors of response. **Methods:** Analysis of gene expression of 92 miRNAs by RT-qPCR using the Biomark HD system (Fluidigm®, USA), extracted from paraffin-embedded intestinal biopsy samples from 18 CD patients treated with adalimumab, who responded (n=9) and did not respond (n=9) to treatment. Both groups were identified based on endoscopic criteria. Response to treatment was defined as SES-CD 0-2. **Results:** Nine miRNAs were identified as possible predictors of response (miR-27b-3p, miR-106a-5p, miR-124-3p, miR-135a-2-3p, miR-140-3p, miR-146a-3p, miR-149-3p, miR-758-5p, and miR-1287-5p). Another 14 miRNAs had their expressions modulated to higher or lower expression after treatment in both responder and non-responder groups, thus being considered biomarkers of effect. **Conclusion:** Predicting response to treatment is a way to avoid therapeutic failure and reduce costs and risks of toxicity. MiRNAs are promising biomarkers in this new context. However, further studies should be carried out to confirm the applicability of this technique.

Keywords: Inflammatory Bowel Disease. Crohn's Disease. Biological Therapy. MicroRNA.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 DOENÇA DE CROHN	11
1.1.1 Opções de tratamento da DC	12
1.2 MicroRNAs E A RELAÇÃO COM A DOENÇA DE CROHN	16
2 HIPÓTESE	18
3 OBJETIVOS	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 ASPECTOS ÉTICOS E DESENHO DO ESTUDO	19
4.2 PACIENTES E AMOSTRAS	19
4.2.1 Protocolo sociodemográfico e dados clínicos	20
4.3 CLASSIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA DOENÇA DE CROHN ...	21
4.4 EXTRAÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS	21
4.5 SELEÇÃO E ANÁLISE DOS miRNAs	22
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
5 RESULTADOS.....	26
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES E PERFIL DE DOENÇA	26
5.2 EXPRESSÃO DOS miRNAs	28
6 DISCUSSÃO	32
7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	39
8 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40
ANEXO 1.....	47
ANEXO 2.....	49
ANEXO 3.....	51
ANEXO 4.....	52
ANEXO 5.....	53

1 INTRODUÇÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) compreende dois principais tipos: Doença de Crohn (DC) e Retocolite Ulcerativa (RCU), caracterizadas por processo inflamatório crônico, tratável, porém sem cura, que afeta diferentes porções do trato gastrointestinal (1). A DII é uma condição multifatorial, resultado da predisposição genética do indivíduo, somada à alteração de sua microbiota, além da influência de fatores ambientais como alimentação, uso de cigarro e de medicamentos (como antibióticos e anticoncepcionais), e fatores emocionais (2).

O Brasil está entre os países classificados com prevalência intermediária a alta nos casos de DII, sendo que mais de 200.000 indivíduos foram diagnosticados com um dos tipos da doença até 2020; desde então, o número de diagnósticos tem aumentado e sobrecarregado o sistema de saúde (3). Estima-se que, ao redor do mundo, cerca de cinco milhões de pessoas tenham sido diagnosticadas com algum tipo de DII e que, aproximadamente, 50 mil foram a óbito em decorrência da doença em 2019 (4).

Os principais sintomas que acometem o paciente de DII incluem dor abdominal, diarreia, fezes com presença de sangue e muco e perda de peso (5). Complicações como estenose, abscessos e fístulas são características da forma grave da doença, que ainda pode levar às manifestações extra intestinais, as quais envolvem o aparecimento de manifestações inflamatórias em outros sistemas fora do gastrointestinal, como artrite, pioderma gangrenoso, eritema nodoso, psoríase, colangite esclerosante, uveíte e irite (6).

Na DII ocorre desregulação nas imunidades inata e adaptativa, sendo que, na primeira, há alteração na integridade da barreira epitelial aliada à infiltração de células de defesa como neutrófilos, células dendríticas e macrófagos enquanto que, na segunda, há a ativação de células T e B, e produção intensificada de citocinas pró-inflamatórias (7).

A RCU e a DC se assemelham no curso clínico, porém se diferenciam na extensão do processo inflamatório. A inflamação da RCU atinge a mucosa e submucosa do reto e do cólon e é classificada como distal (até o cólon sigmoide), colite esquerda (até o cólon descendente) ou pancolite (atingindo as demais porções

como o transverso e o ascendente), sendo que o intestino delgado e as demais porções do trato gastrointestinal permanecem preservadas (8). Com relação à DC, foco deste trabalho, o perfil inflamatório e os demais aspectos que envolvem essa condição serão abordados com maiores detalhes no tópico seguinte.

1.1 DOENÇA DE CROHN

O processo inflamatório na DC atinge as camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa do intestino, sendo, portanto, de característica transmural (9). O íleo é comumente a região mais afetada, porém pontos de inflamação característicos da doença podem atingir desde a boca até o ânus (10). Para que seja feito o diagnóstico da DC, é necessária a avaliação de aspectos clínicos, endoscópicos, histológicos e laboratoriais.

Além dos sintomas comuns para uma DII (diarreia e dor abdominal), a clínica do paciente com DC pode incluir presença de massa palpável na região da fossa ilíaca direita (11) e atividade perianal com a ocorrência de fissuras e úlceras na região do ânus, do esfíncter e parede do reto indicando progressão local da doença, e estenose anal, resultado de processos de cicatrização de lesões (12). Cerca de 20% a 30% dos pacientes de DC apresentam doença perianal e, conseqüentemente, são expostos por mais tempo e à maiores quantidades de medicamentos imunossupressores em comparação aos pacientes sem atividade perianal (13).

De acordo com a Organização Europeia de Crohn e Colite (do inglês, *ECCO*), a ileocolonosopia é a principal ferramenta para o diagnóstico, bem como para a compreensão da extensão e gravidade da doença (14). Através desse exame, são visualizados padrões inflamatórios característicos e diferenciais da DC como as lesões aftoides intermitentes com tecido preservado ao redor, úlceras longitudinais, além de fístulas e estenoses (15). Além do exame de imagem, o *ECCO* ainda recomenda que a entero-tomografia, a entero-ressonância ou o ultrassom sejam também realizados para auxiliar na identificação da atividade da doença, diagnosticar complicações, detectar fístulas e monitorar a resposta ao tratamento (16).

REFERÊNCIAS

1. M'Koma AE. Inflammatory Bowel Disease: Clinical Diagnosis and Surgical Treatment-Overview. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(5).
2. Singh N, Bernstein CN. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *United European Gastroenterol J*. 2022;10(10):1047-53.
3. Quaresma AB, Guedes LR, Barros JR, Baima JP, Imbrizi M, Zerôncio MA, Kotze PG, Flores C, On behalf of GEDIIB. Structural evaluation of inflammatory bowel disease comprehensive care units in Brazil. *Arq Gastroenterol*. 2024. v. 61:e23166.
4. Wang R, Li Z, Liu S, Zhang D. Global, regional and national burden of inflammatory bowel disease in 204 countries and territories from 1990 to 2019: a systematic analysis based on the Global Burden of Disease Study 2019. *BMJ Open*. 2023;13(3):e065186.
5. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Prim Care*. 2017;44(4):673-92.
6. Rogler G, Singh A, Kavanaugh A, Rubin DT. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management. *Gastroenterology*. 2021;161(4):1118-32.
7. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Immunol Res*. 2019;2019:7247238.
8. Porter RJ, Kalla R, Ho GT. Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Res*. 2020;9.
9. Younis N, Zarif R, Mahfouz R. Inflammatory bowel disease: between genetics and microbiota. *Mol Biol Rep*. 2020;47(4):3053-63.
10. Veauthier B, Hornecker JR. Crohn's Disease: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*. 2018;98(11):661-9.
11. Ballester Ferré M, Boscá-Watts M, Mínguez Pérez M. Crohn's disease. *Med Clin (Barc)*. 2018;151(1):26-33.
12. Pogacnik JS, Salgado G. Perianal Crohn's Disease. *Clin Colon Rectal Surg*. 2019;32(5):377-85.
13. McLellan P, Kirchgessner J. Perianal fistulizing Crohn's disease and overall risk of cancer: No red flag. *United European Gastroenterol J*. 2023;11(5):401-2.
14. Negreanu L, Voiosu T, State M, Voiosu A, Bengus A, Mateescu BR. Endoscopy in inflammatory bowel disease: from guidelines to real life. *Therap Adv Gastroenterol*. 2019;12:1756284819865153.
15. Gomollón F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay J, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2017;3–25.
16. Stenczel ND, Purcarea MR, Tribus LC, Oniga GH. The role of the intestinal ultrasound in Crohn's disease diagnosis and monitoring. *J Med Life*. 2021;14(3):310-5.
17. Bentley E, Jenkins D, Campbell F, Warren B. How could pathologists improve the initial diagnosis of colitis? Evidence from an international workshop. *J Clin Pathol*. 2002;55(12):955-60.
18. Kim M, Cho M, Hong S, Song JH, Kim ER, Hong SN, et al. Weight loss from diagnosis of Crohn's disease to one year post-diagnosis results in earlier surgery. *Sci Rep*. 2023;13(1):21101.

19. Dignass AU, Gasche C, Bettenworth D, Birgegard G, Danese S, Gisbert JP, et al. European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis*. 2015;9(3):211-22.
20. Fagan EA, Dyck RF, Maton PN, Hodgson HJ, Chadwick VS, Petrie A, et al. Serum levels of C-reactive protein in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest*. 1982;12(4):351-9.
21. D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Ferronato A, Fries W, Vettorato MG, et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis*. 2007;22(4):429-37.
22. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(1):91-9.
23. de Lange KM, Moutsianas L, Lee JC, Lamb CA, Luo Y, Kennedy NA, et al. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat Genet*. 2017;49(2):256-61.
24. Wang M, Picco M. Crohn's Disease: Genetics Update. *Gastroenterol Clin N Am*. 2017;17:1-13.
25. Agrawal M, Colombel JF. Treat-to-Target in Inflammatory Bowel Diseases, What Is the Target and How Do We Treat? *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2019;29(3):421-36.
26. Plevris N, Lees CW. Disease Monitoring in Inflammatory Bowel Disease: Evolving Principles and Possibilities. *Gastroenterology*. 2022;162(5):1456-75 e1.
27. Garcia NM, Cohen NA, Rubin DT. Treat-to-target and sequencing therapies in Crohn's disease. *United European Gastroenterol J*. 2022;10(10):1121-8.
28. Srinivasan AR. Treat to target in Crohn's disease: A practical guide for clinicians. *World J Gastroenterol*. 2024;30(1):50-69.
29. Elhag DA, Kumar M, Saadaoui M, Akobeng AK, Al-Mudahka F, Elawad M, et al. Inflammatory Bowel Disease Treatments and Predictive Biomarkers of Therapeutic Response. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13).
30. Wang MH, Friton JJ, Raffals LE, Leighton JA, Pasha SF, Picco MF, et al. Novel Genetic Risk Variants Can Predict Anti-TNF Agent Response in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2019;13(8):1036-43.
31. Berg DR, Colombel JF, Ungaro R. The Role of Early Biologic Therapy in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25(12):1896-905.
32. Lykowska-Szuber L, Walczak M, Dobrowolska A, Skrzypczak-Zielinska M. Apoptosis and inflammatory genes variants in primary non-response to anti-TNF therapy in Crohn's disease patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2023;35(10):1088-96.
33. Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intest Res*. 2018;16(1):26-42.
34. Altwegg R, Vincent T. TNF blocking therapies and immunomonitoring in patients with inflammatory bowel disease. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:172821.
35. DeBerg HA, Konecny AJ, Shows DM, Lord JD. MAdCAM-1 Costimulates T Cells through Integrin alpha(4)beta(7) to Cause Gene Expression Events Resembling Costimulation through CD28. *Immunohorizons*. 2022;6(3):211-23.
36. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, et al. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2013;369(8):711-21.
37. Hui S, Sinopoulou V, Gordon M, Aali G, Krishna A, Ding NS, et al. Vedolizumab for induction and maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2023;7(7):CD013611.

38. Sandborn WJ, Gasink C, Gao LL, Blank MA, Johanns J, Guzzo C, et al. Ustekinumab induction and maintenance therapy in refractory Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2012;367(16):1519-28.
39. Langrish CL, McKenzie BS, Wilson NJ, de Waal Malefyt R, Kastelein RA, Cua DJ. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev*. 2004;202:96-105.
40. Benson JM, Peritt D, Scallon BJ, Heavner GA, Shealy DJ, Giles-Komar JM, et al. Discovery and mechanism of ustekinumab: a human monoclonal antibody targeting interleukin-12 and interleukin-23 for treatment of immune-mediated disorders. *MAbs*. 2011;3(6):535-45.
41. Hu X, Li J, Fu M, Zhao X, Wang W. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):402.
42. Harris C, Cummings JRF. JAK1 inhibition and inflammatory bowel disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2021;60(Supple 2):ii45-ii51.
43. Loftus, E.V.; Panés, J.; Lacerda, A.P.; Peyrin-Biroulet, L.; D'Haens, G.; Panaccione, R.; Reinisch, W.; Louis, E.; Chen, M.; Nakase, H.; et al. Upadacitinib Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. *N. Engl. J. Med*. 2023, 388, 1966–1980.
44. Catalan-Serra I, Brenna O. Immunotherapy in inflammatory bowel disease: Novel and emerging treatments. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(11):2597-611.
45. Moein S, Vaghari-Tabari M, Qujeq D, Majidinia M, Nabavi SM, Yousefi B. MiRNAs and inflammatory bowel disease: An interesting new story. *J Cell Physiol*. 2019;234(4):3277-93.
46. Xu XM, Zhang HJ. miRNAs as new molecular insights into inflammatory bowel disease: Crucial regulators in autoimmunity and inflammation. *World J Gastroenterol*. 2016;22(7):2206-18.
47. Wu F, Zikusoka M, Trindade A, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, et al. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 alpha. *Gastroenterology*. 2008;135(5):1624-35 e24.
48. Fasseu M, Treton X, Guichard C, Pedruzzi E, Cazals-Hatem D, Richard C, et al. Identification of restricted subsets of mature microRNA abnormally expressed in inactive colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *PLoS One*. 2010;5(10).
49. Hubenthal M, Hemmrich-Stanisak G, Degenhardt F, Szymczak S, Du Z, Elsharawy A, et al. Sparse Modeling Reveals miRNA Signatures for Diagnostics of Inflammatory Bowel Disease. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140155.
50. Soroosh A, Koutsoumpa M, Pothoulakis C, Iliopoulos D. Functional role and therapeutic targeting of microRNAs in inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2018;314(2):G256-G62.
51. Dhuppar S, Murugaiyan G. miRNA effects on gut homeostasis: therapeutic implications for inflammatory bowel disease. *Trends Immunol*. 2022;43(11):917-31.
52. Liu D, Saikam V, Skrada KA, Merlin D, Iyer SS. Inflammatory bowel disease biomarkers. *Med Res Rev*. 2022;42(5):1856-87.
53. Ho PTB, Clark IM, Le LTT. MicroRNA-Based Diagnosis and Therapy. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13).
54. Daperno M, D'Haens G, Van Assche G, Baert F, Bulois P, Maunoury V, et al. Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. *Gastrointest Endosc*. 2004;60(4):505-12.

55. Abbass M, Cepek J, Parker CE, Nguyen TM, MacDonald JK, Feagan BG, et al. Adalimumab for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;2019(11).
56. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;19 Suppl A:5A-36A.
57. Sturm A, Maaser C, Calabrese E, Annese V, Fiorino G, Kucharzik T, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 2: IBD scores and general principles and technical aspects. *J Crohns Colitis*. 2019;13(3):273-84.
58. Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, Sato Y, Morishima K. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(D1):D353-D61.
59. Kanehisa M, Goto S, Kawashima S, Nakaya A. The KEGG databases at GenomeNet. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(1):42-6.
60. Chen X, Liang H, Guan D, Wang C, Hu X, Cui L, et al. A combination of Let-7d, Let-7g and Let-7i serves as a stable reference for normalization of serum microRNAs. *PLoS One*. 2013;8(11):e79652.
61. Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, et al. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology*. 2006;130(2):323-33; quiz 591.
62. Bouhnik Y, Carbonnel F, Laharie D, Stefanescu C, Hebuterne X, Abitbol V, et al. Efficacy of adalimumab in patients with Crohn's disease and symptomatic small bowel stricture: a multicentre, prospective, observational cohort (CREOLE) study. *Gut*. 2018;67(1):53-60.
63. Bouhnik Y, Pineton de Chambrun G, Lambert J, Nachury M, Seksik P, Altwegg R, et al. Adalimumab in Biologic-naïve Patients With Crohn's Disease After Resolution of an Intra-abdominal Abscess: A Prospective Study From the GETAID. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2023;21(13):3365-78 e5.
64. Kim ES, Kang B. Infliximab vs adalimumab: Points to consider when selecting anti-tumor necrosis factor agents in pediatric patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2023;29(18):2784-97.
65. Kopylov U, Al-Taweel T, Yaghoobi M, Nauche B, Bitton A, Lakatos PL, et al. Adalimumab monotherapy versus combination therapy with immunomodulators in patients with Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2014;8(12):1632-41.
66. Matsumoto T, Motoya S, Watanabe K, Hisamatsu T, Nakase H, Yoshimura N, et al. Adalimumab Monotherapy and a Combination with Azathioprine for Crohn's Disease: A Prospective, Randomized Trial. *J Crohns Colitis*. 2016;10(11):1259-66.
67. Watanabe K, Matsumoto T, Hisamatsu T, Nakase H, Motoya S, Yoshimura N, et al. Clinical and Pharmacokinetic Factors Associated With Adalimumab-Induced Mucosal Healing in Patients With Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(4):542-9 e1.
68. D'Onofrio N, Prattichizzo F, Martino E, Anastasio C, Mele L, La Grotta R, Sardù C, Ceriello A, Marfella R, Paolisso G, Balestrieri ML. MiR-27b attenuates mitochondrial oxidative stress and inflammation in endothelial cells. *Redox Biol*. 2023 Jun;62:102681.
69. Sanctuary MR, Huang RH, Jones AA, Luck ME, Aherne CM, Jedlicka P, de Zoeten EF, Collins CB. miR-106a deficiency attenuates inflammation in murine IBD models. *Mucosal Immunol*. 2019 Jan;12(1):200-211.

70. Chapman CG, Pekow J. The emerging role of miRNAs in inflammatory bowel disease: a review. *Therap Adv Gastroenterol*. 2015 Jan;8(1):4-22.
71. Dasgupta D, Ghosh S, Dey I, Majumdar S, Chowdhury S, Das S, Banerjee S, Saha M, Ghosh A, Roy N, Manna A, Ray S, Agarwal S, Bhaumik P, Datta S, Chowdhury A, Banerjee S. Influence of polymorphisms in TNF- α and IL1 β on susceptibility to alcohol induced liver diseases and therapeutic potential of miR-124-3p impeding TNF- α /IL1 β mediated multi-cellular signaling in liver microenvironment. *Front Immunol*. 2023 Dec 11;14:1241755.
72. Sun Y, Li Q, Gui H, Xu DP, Yang YL, Su DF, Liu X. MicroRNA-124 mediates the cholinergic anti-inflammatory action through inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines. *Cell Res*. 2013 Nov;23(11):1270-83.
73. Li H, Wan HQ, Zhao HJ, Luan SX, Zhang CG. Identification of candidate genes and miRNAs associated with neuropathic pain induced by spared nerve injury. *Int J Mol Med*. 2019 Oct;44(4):1205-1218.
74. Lu X, Yin D, Zhou B, Li T. MiR-135a Promotes Inflammatory Responses of Vascular Smooth Muscle Cells From db/db Mice via Downregulation of FOXO1. *Int Heart J*. 2018 Jan 27;59(1):170-179.
75. Meng J, Zou Y, Hou L, He L, Liu Y, Cao M, Wang C, Du J. MiR-140-3p Ameliorates The Inflammatory Response of Airway Smooth Muscle Cells by Targeting HMGB1 to Regulate The JAK2/STAT3 Signaling Pathway. *Cell J*. 2022 Nov 2;24(11):673-680.
76. Wang J, Zhu M, Zhou X, Wang T, Xi Y, Jing Z, Xi W. MiR-140-3p inhibits natural killer cytotoxicity to human ovarian cancer via targeting MAPK1. *J Biosci*. 2020;45:66.
77. Zhu F, Yang T, Ning M, Liu Y, Xia W, Fu Y, Wen T, Zheng M, Xia R, Qian R, Li Y, Sun M, Liu J, Tian L, Zhou Q, Yu X, Peng C. MiR-146a alleviates inflammatory bowel disease in mice through systematic regulation of multiple genetic networks. *Front Immunol*. 2024 May 10;15:1366319.
78. Guz M, Dworzański T, Jeleniewicz W, Cybulski M, Kozicka J, Stepulak A, Celiński K. Elevated miRNA Inversely Correlates with *E-cadherin* Gene Expression in Tissue Biopsies from Crohn Disease Patients in contrast to Ulcerative Colitis Patients. *Biomed Res Int*. 2020 Jul 22;2020:4250329.
79. Luo S, Chen XH. Tissue and serum miR-149-3p/5p in hospitalized patients with inflammatory bowel disease: Correlation with disease severity and inflammatory markers. *Kaohsiung J Med Sci*. 2024 Feb;40(2):131-138.
80. Feng Q, Li Y, Zhang H, Wang Z, Nie X, Yao D, Han L, Chen WD, Wang YD. Deficiency of miRNA-149-3p shaped gut microbiota and enhanced dextran sulfate sodium-induced colitis. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022 Sep 24;30:208-225.
81. Ha S, Kim KW, Lee SM, Lee CH, Kim SY. MicroRNA Dysregulation in the Hippocampus of Rats with Noise-Induced Hearing Loss. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Sep 6;2021:1377195.
82. Gallardo VJ, Gómez-Galván JB, Asskour L, Torres-Ferrús M, Alpuente A, Caronna E, Pozo-Rosich P. A study of differential microRNA expression profile in migraine: the microMIG exploratory study. *J Headache Pain*. 2023 Feb 17;24(1):11.
83. Zhu Y, Liu L, Chu L, Lan J, Wei J, Li W, Xue C. Microscopic polyangiitis plasma-derived exosomal miR-1287-5p induces endothelial inflammatory injury and neutrophil adhesion by targeting CBL. *PeerJ*. 2023 Jan 27;11:e14579.
84. Chang H, Qu J, Wang J, Liang X, Sun W. Circular RNA circ_0026134 regulates non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion via sponging miR-1256 and miR-1287. *Biomed Pharmacother*. 2019;112:108743.
85. Wcisło-Dziadecka D, Simka K, Kaźmierczak A, Kruszniewska-Rajs C, Gola J, Grabarek B, Hybiak J, Grillon C, Mazurek U, Łos MJ. Psoriasis Treatment Changes

the Expression Profile of Selected Caspases and their Regulatory MicroRNAs. *Cell Physiol Biochem*. 2018;50(2):525-537.

86. Chen DY, Chen YM, Lin CF, Lo CM, Liu HJ, Liao TL. MicroRNA-889 Inhibits Autophagy To Maintain Mycobacterial Survival in Patients with Latent Tuberculosis Infection by Targeting TWEAK. *mBio*. 2020 Jan 28;11(1):e03045-19.

87. Krishnachaitanya SS, Liu M, Fujise K, Li Q. MicroRNAs in Inflammatory Bowel Disease and Its Complications. *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 6;23(15):8751.

88. Zhang M, Niu Z, Huang Q, Han L, Du J, Liang J, Cheng Y, Cao R, Yawalkar N, Zhang Z, Yan K. Identification of an exosomal miRNA-mRNA regulatory network contributing to methotrexate efficacy. *Int Immunopharmacol*. 2024 Jun 30;135:112280.

89. Ramadan YN, Kamel AM, Medhat MA, Hetta HF. MicroRNA signatures in the pathogenesis and therapy of inflammatory bowel disease. *Clin Exp Med*. 2024 Sep 11;24(1):217.

90. Normann LS, Haugen MH, Aure MR, Kristensen VN, Mælandsmo GM, Sahlberg KK. miR-101-5p Acts as a Tumor Suppressor in HER2-Positive Breast Cancer Cells and Improves Targeted Therapy. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2022 Mar 1;14:25-39.

91. Paraskevi A, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, Mantzaris G, Nikiteas N, Gazouli M. Circulating MicroRNA in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2012 Oct;6(9):900-4.

92. Zahm AM, Thayu M, Hand NJ, Horner A, Leonard MB, Friedman JR. Circulating microRNA is a biomarker of pediatric Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011; 53: 26-33.

93. Yan L, Zhou R, Feng Y, Li R, Zhang L, Pan Y, Qiao X, Li P, Wei X, Xu C, Li Y, Niu X, Sun X, Lv Z, Tian Z. MiR-134-5p inhibits the malignant phenotypes of osteosarcoma via ITGB1/MMP2/PI3K/Akt pathway. *Cell Death Discov*. 2024 Apr 25;10(1):193.

94. Luo P, Fang J, Chen H, He F, Xiao S, Liu H, Zhu S, Luo J, Jiang C. c-Myb-mediated inhibition of miR-601 in facilitating malignance of osteosarcoma via augmentation of PKMYT1. *Sci Rep*. 2022 Apr 23;12(1):6692.

95. Zhu M, Zhang W, Ma J, Dai Y, Zhang Q, Liu Q, Yang B, Li G. MicroRNA-139-5p regulates chronic inflammation by suppressing nuclear factor- κ B activity to inhibit cell proliferation and invasion in colorectal cancer. *Exp Ther Med*. 2019 Nov;18(5):4049-4057.

96. Zou F, Mao R, Yang L, Lin S, Lei K, Zheng Y, Ding Y, Zhang P, Cai G, Liang X, Liu J. Targeted deletion of miR-139-5p activates MAPK, NF- κ B and STAT3 signaling and promotes intestinal inflammation and colorectal cancer. *FEBS J*. 2016 Apr;283(8):1438-52.

97. Li YJ, Baumert BO, Stratakis N, Goodrich JA, Wu HT, He JX, Zhao YQ, Aung MT, Wang HX, Eckel SP, Walker DI, Valvi D, La Merrill MA, Ryder JR, Inge TH, Jenkins T, Sisley S, Kohli R, Xanthakos SA, Baccarelli AA, McConnell R, Conti DV, Chatzi L. Circulating microRNA expression and nonalcoholic fatty liver disease in adolescents with severe obesity. *World J Gastroenterol*. 2024 Jan 28;30(4):332-345.

98. Ding T, Li Y, Tang R, Zhang X, Yun Y, Li J, Wang D. Differential expression of miRNAs in myocardial tissues of rats with lipopolysaccharide- induced endotoxemia. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2015 Feb;35(2):213-7.

99. Yan LJ, Lin HB, Yu HQ, Jie LR, Chen J, Mei YL, Peng Y. The clinical diagnostic value of plasma miR-592 and miR-217-3p levels in retinoblastoma. *J Med Biochem*. 2022 Oct 15;41(4):497-505.

100. Ouyang X, Jiang X, Gu D, Zhang Y, Kong SK, Jiang C, Xie W. Dysregulated Serum MiRNA Profile and Promising Biomarkers in Dengue-infected Patients. *Int J Med Sci*. 2016 Feb 18;13(3):195-205.
101. Riaz F, Chen Q, Lu K, Osoro EK, Wu L, Feng L, Zhao R, Yang L, Zhou Y, He Y, Zhu L, Du X, Sadiq M, Yang X, Li D. Inhibition of miR-188-5p alleviates hepatic fibrosis by significantly reducing the activation and proliferation of HSCs through PTEN/PI3K/AKT pathway. *J Cell Mol Med*. 2021 Apr;25(8):4073-4087.
102. Kim Y, Zhang Y, Pang K, Kang H, Park H, Lee Y, Lee B, Lee HJ, Kim WK, Geum D, Han K. Bipolar Disorder Associated microRNA, miR-1908-5p, Regulates the Expression of Genes Functioning in Neuronal Glutamatergic Synapses. *Exp Neurobiol*. 2016 Dec;25(6):296-306.
103. Zhao W, Sun F, Zhang L, Ouyang J. NEAT1 variant 1 weakens the genome-wide effect of miR-3122 on blocking H3K79me3 in bladder cancer. *Aging (Albany NY)*. 2022 Jun 10;14(11):4819-4826.