

# UTILITATEA ȘI SEMNIFICAȚIA MARKERILOR SEROLOGICI IMUNI AI INFLAMAȚIEI LA PACIENȚII CU COLITĂ ULCERATIVĂ

**Dr. Olga BRUSNIC<sup>1</sup>** - medic specialist, doctorand

**Prof. Dr. Daniela DOBRU<sup>1</sup>** - medic primar,  
director Școala doctorală,

**Dr. Danusia ONISOR<sup>1</sup>** - medic specialist,  
doctorand,

**Dr. Ofelia PASCARENCO<sup>1</sup>** - medic specialist,  
doctorand,

**Dr. Mircea STOIAN<sup>2</sup>** - medic specialist, doctorand,

<sup>1</sup> Spitalul Clinic Județean Mureș, Secția Clinică  
Gastroenterologie,

<sup>2</sup> Spitalul Clinic Județean Mureș, Secția de Anestezie  
Terapie Intensivă.

**INTRODUCERE:** Au fost definite trei forme majore de boli inflamatorii intestinale (BII), în baza simptomelor bolii și în baza testelor de laborator uzuale, a endoscopiei, radiologiei și a parametrilor histologici: boală Crohn (BC), colită ulcerativă (CU) și colită nedeterminată (IC). Diagnosticul de IC este, de obicei, un diagnostic temporar, majoritatea pacienților cu IC sunt diagnosticați, la un moment dat, cu CU sau BC [1].

Progresele recente în domeniul testelor de diagnostic se concentrează asupra markerilor serologici imuni. Numeroase studii au investigat utilitatea a 2 markeri serologici în diferențierea CU de BC: Anticorpul anti-citoplasmatic neutrofilic perinuclear (pANCA) și Anticorpul anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA). Determinarea acestor anticorpi (Ac) reprezintă teste diagnostic non-invasive ideale pentru pacienții cu BII, în special în perioadele de exacerbări severe, în cazuri în care efectuarea endoscopiei imediate ar putea fi contraindicată, sau dacă există segmente ale colonului inaccesibile examinării endoscopice [1]. Având în vedere modificările specifice ale ASCA și pANCA în BC și CU, acești markeri au îmbunătățit sensibilitatea la testare și au început să fie utilizați ca teste diagnostic adjuvante și ca posibili indicatori prognostici, având în vedere asocierea lor cu fenotipul bolii [2].

Scopul acestui studiu a fost de a investiga valoarea diagnostică a pANCA și ASCA, pentru diagnosticul BII și diferențierea CU de BC.

**MATERIAL ȘI METODĂ:** Am efectuat un studiu prospectiv, pe un lot de pacienți aflați în dispensarizarea Clinicii de Gastroenterologie din Târgu Mureș pe perioada anului 2010. Criteriile de includere în studiu au fost următoarele: prezența durerilor abdominale, tranzit intestinal modificat, și/sau prezența rectoragiilor. În prima fază (Faza I) diagnosticul de BII a fost stabilit prospectiv în baza anamnezei, examenului clinic, a testelor de laborator (nivelul hemoglobinei, a numărului de leucocite, trombocite, a

**INTRODUCERE:** Progresele recente în domeniul testelor de diagnostic se concentrează asupra markerilor serologici imuni: anticorpul anti-citoplasmatic neutrofilic perinuclear (pANCA) și anticorpul anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) precum și utilitatea lor în diferențierea colitei ulcerative (CU), de boala Crohn (BC) și de colita nedeterminată (IC).

SCOPUL acestui studiu a fost de a investiga valoarea diagnostică a pANCA și ASCA în diagnosticul BII și diferențierea CU de BC.

**MATERIAL ȘI METODĂ:** Am efectuat un studiu prospectiv pe un lot de 31 de pacienți nou-diagnosticați sau cu diagnostic stabilit de CU (n=15), BC (n=9) sau IC (n=7), precum și un grup de control (n=7). Determinarea anticorpilor a fost realizată cu teste ELISA. Diagnosticul definitiv a fost stabilit utilizând metode convenționale (colonoscopie sau ileoscopie).

**RESULTATE:** Sensibilitatea și specificitatea pANCA pentru diagnosticul de CU a fost 66,67%, respectiv 77,78%; pentru ASCA (în BC): 20%, respectiv 22,22%. Determinarea combinată a celor 2 markeri a determinat modificări în acuratețea stabilirii diagnosticului: pANCA+/ASCA- în CU și pANCA-/ASCA+ în BC: 75% și respectiv 72,73%. În faza II, la 23 din 38 pacienți diagnosticul definitiv a fost stabilit utilizând tehnici convenționale (colonoscopie și ileoscopie). În lotul cu IC, după 1 an de urmărire, diagnosticul definitiv a fost stabilit la 5 din 7 pacienți.

**CONCLUZII:** Utilizând determinarea combinată a pANCA și ASCA, rezultatele testelor influențează substanțial probabilitatea pretest-postest pentru diferențierea CU de BC la pacienții cu BII. Aceste determinări ar putea fi utile la pacienții la care diferențierea dintre BC și CU nu poate fi stabilită prin metode clasice de diagnostic.

**Cuvinte cheie:** Colită ulcerativă, Boala Crohn, Colită nedeterminată, Anticorpul anti-citoplasmatic neutrofilic perinuclear, Anticorpul anti-Saccharomyces cerevisiae.

valorilor electroliților serici, albuminei, a nivelului de VSH și PCR), în baza ecografiei abdominale și a testelor coprologice în vederea excluderii bolilor infecțioase (coprocultură, examen coproparazitologic, determinarea toxinelor A și B a Clostridium difficile). Din totalul de 164 de pacienți cu BII, în studiu au fost incluși 31 de pacienți nou-diagnosticați sau cu diagnostic stabilit de CU (n=15), BC (n=9) sau IC (n=7), precum și un grup de control (n=7) – subiecți sănătoși cu distribuție similară a vârstei și sexului.

Toate testele serice au fost depozitate la -20°C până la momentul analizării. Determinarea p-ANCA s-a efectuat cu ajutorul reacției imunoenzimatică (ELISA) utilizând mieloperoxidaza IgG. Conform instrucțiunilor producătorului, valoarea de referință cut-off este de 20 RU/ml; valori mai mari de 20 RU/ml au fost interpretate ca fiind pozitive. Determinarea ASCA a fost efectuată utilizând kituri ELISA pentru ASCA IgA și IgG. Valori mai mari de 20 RU/ml au fost interpretate ca fiind pozitive.

Pentru stabilirea diagnosticului definitiv am utilizat metodele convenționale (colonoscopie, ileoscopie sau capsulă endoscopica), la 23 din 38 de pacienți (faza II). Extinderea leziunilor, în grupul pacienților cu CU, a fost determinată prin colonoscopie totală și a fost împărțită conform Clasificării Montreal în colită extinsă (pancolită), colită stângă și proctită. Activitatea clinică a fost evaluată utilizând scorul Mayo, boala fiind clasificată în boală ușoară, moderată și severă.

Extinderea leziunilor în grupul pacienților cu BC a fost clasificată conform Clasificării Montreal în ileală, colonică și ileocolonică. Severitatea bolii a fost determinată în baza criteriilor clinice, în acord cu Indicele de Activitate a Bolii Crohn (CDAI), și a fost împărțită în afecțiune ușor-moderată, moderat-severă și boală sever-fulminantă. Indicele CDAI mai mare de 150 a fost considerat ca predictor al BC în fază activă. Scorul endoscopic pentru BC a fost determinat în baza SES-CD (Simplified endoscopic score for Crohn's disease).

Analiza statistică: Datele au fost procesate cu ajutorul instrumentelor statistice în Excel (Microsoft Excel 2003) și a programului statistic GraphPad Prism 5. Valoarea  $p < 0.05$  a fost considerată ca fiind semnificativă.

**REZULTATE:** În studiu au participat 38 pacienți. Toți pacienții au fost incluși în trei grupe: 31 în grupa de BII, respectiv: grupa de CU ( $n=15$ ), grupa BC ( $n=9$ ) și grupa cu IC ( $n=7$ ), și 7 subiecți sănătoși – în grupa de control (GC). Datele demografice ale pacienților incluși în studiu sunt redate mai jos în Tabelul I.

Au fost incluși în studiu: 21 femei și 17 bărbați, cu o vârstă medie de 38,54 ani. În grupul pacienților cu CU, 20% au fost cu proctită, 46,66% cu colită stângă, și 33,33% cu colită extinsă (Figura 1).

Activitatea clinică a fost determinată în baza scorului UCDAI: nici un pacient cu CU nu a fost în remisiune clinică, 2 pacienți au avut boală cu activitate ușoară (4-5 puncte), 10 au avut boală cu activitate moderată (6-10 puncte), iar 2 au avut boală cu activitate severă (11-12 puncte) (Figura 2).

În grupul pacienților cu BC distribuția leziunilor a fost următoarea: la nivelul intestinului subțire - 11,11%, la nivel ileocolonic - 33,33%, iar la nivel colonic - 55,55% (Figura 3).

Indicele de activitate clinică, în grupul pacienților cu BC, a fost calculat utilizând SES-CD, și s-a aflat între valorile 150 - 460, respectiv puseu de activitate ușor-moderat a fost la 22% din pacienți, puseu moderat-sever la 67% și puseu sever la 11%.

pANCA a fost detectat ca fiind pozitiv cu ajutorul testului ELISA în 10 din 15 (66,6%) probe din grupul pacienților cu CU, în 2 din 9 (22,2%) probe din grupul pacienților cu BC, și în 3 din 7 (42,85%) probe din grupul pacienților cu IC. Nu s-au detectat valori pozitive pentru pANCA în grupul de control (Table II). Diferența dintre prevalența valorii pozitive a pANCA în grupul pacienților cu BII și respectiv GC a fost semnificativă statistic ( $P < 0,0007$ ). Circa 5 (33%) pacienți cu pancolită și 7 (47%) pacienți cu colită stângă au avut valori pozitive pentru pANCA. ASCA au fost depistați, utilizând teste ELISA, în 3 din 15 (20%) probe din grupul cu CU, în 7 din 9 (77,7%) probe din grupul cu BC și în 2 din 7 (28,57%) probe din grupul cu IC. Nu s-au depistat valori pozitive pentru ASCA în GC. (Tabelul 2).

Diferența dintre prevalența valorilor pozitive pentru ASCA în lotul pacienților cu BII și respectiv lotul de control a fost semnificativă statistic. Valori negative ale pANCA în lotul de pacienți cu CU s-au asociat cu forme ușoare de proctită ulcerohemoragică și colită stângă. Sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă (PPV) și valoarea predictivă negativă (NPV) ale pANCA pentru diagnosticul de CU au fost de 0,666; 0,7778; 0,8333 și

Tabelul 1 - Datele demografice ale pacienților incluși în studiu

	CU	BC	IC	GC
Numărul de pacienți	15	9	7	7
Sex				
Barbați	6	4	3	4
Femei	9	5	4	3
Vârsta medie	41,66	43,22	34,57	34,71
Distribuția leziunilor (Clasificarea Montreal)				
Proctită	3	-	-	-
Colită stângă	7	-	-	-
Colită extinsă	5	-	-	-
Intestin subțire	-	1	-	-
Ileocolonică	-	3	-	-
Colonică	-	5	-	-
Activitatea clinică a bolii				
CDAI	-	180,66 (150-460)	-	-
Scor Mayo (UCDAI)	8,66 (4-12)	-	-	-
Scor endoscopic (EAI)	2,92 (1-4)	-	3 (2-4)	-
Simplified Endoscopic Activity Score for Crohn's Disease (SES-CD)	-	2,44 (1-4)	2,5 (2-3)	-
Tratament				
Mesalazină	10	9	-	-
Corticosteroizi orali	6	9	-	-
Ciprofloxacina	2	1	-	-
Azathioprină	3	-	-	-
Infliximab	2	-	-	-
Statut de fumător	7	4	4	5

Figura 1 - Distribuția leziunilor în CU

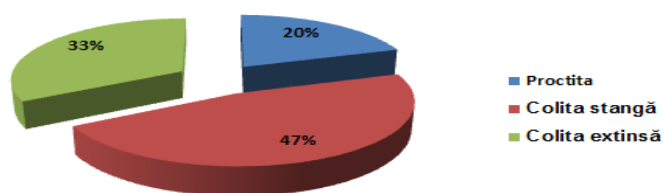
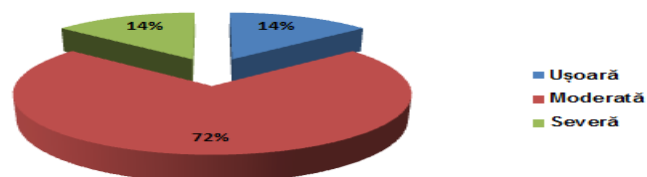
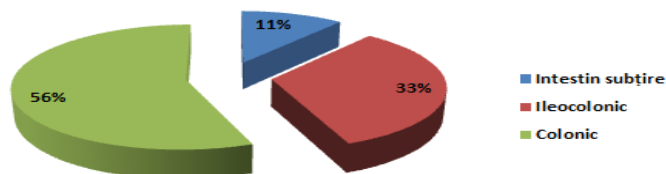


Figura 2 - Activitatea clinică a bolii conform scorului UCDAI



0,583; iar ale ASCA pentru BC au fost: 0,2000; 0,2222; 0,3000; 0,1429 respectiv. Determinarea combinată a Ac pANCA și ASCA a avut o sensibilitate mult mai mare pentru detecția BII. Determinarea combinată a acestor doi markeri a modificat acuratețea stabilirii diagnosticului: pANCA+/ASCA- în CU: 0,7500; 0,7273; 0,7500 și 0,7273, iar pentru pANCA-/ASCA+ în BC: 0,7273; 0,7500; 0,7500 și respectiv 0,7273. Valori pANCA-/ASCA- au fost detectate la 2 pacienți cu IC.

Figura 3 - Distribuția leziunilor în grupul pacienților cu BC



Tabelul 2 - Prevalența pANCA și ASCA la pacienții cu CU, BC, IC și GC

	CU (n=15)	BC (n=9)	IC (n=7)	GC (n=7)
pANCA+	10	2	3	0
pANCA-	5	7	4	7
ASCA+	3	7	2	0
ASCA-	12	2	5	7
pANCA+/ ASCA-	13	7	3	-
pANCA-/ ASCA+	6	11	2	-

În faza II, la 23 din 38 de pacienți, diagnosticul difinitiv a fost stabilit utilizând metode convenționale (colonoscopia și ileoscopia). În grupul cu IC (n=7), diagnosticul endoscopic și histopatologic a fost de CU (n=3), BC (n=2) și IC (n=2). După 1 an de urmărire, un diagnostic difinitiv a fost stabilit la 5 din 7 pacienți.

**DISCUȚII:** Efectuarea testelor serologice utilizând pANCA și ASCA a fost, de asemenea, propusă ca metodă pentru stabilirea unui diagnostic difinitiv de Boală Crohn sau colită ulcerativă la pacienții cu colită nedeterminată. [3-7]. S-a demonstrat că pANCA, în mod repetat, a fost prezent în serul a circa 60% și 20% pacienți cu CU și respectiv BC [8-10]. În studiul nostru pANCA a fost detectat la 10 din 15 pacienți (66,66%) cu CU, la 2 din 9 pacienți (22,22%) cu BC, și la 3 din 7 pacienți (42,85%) cu IC. O categorie distinctă de pacienți cu manifestări de boală Crohn cu localizare la nivelul colonului stâng pot avea valori pozitive pentru pANCA [11].

Koutrobakis și aliații au raportat pozitivitatea pANCA la la 30% pacienți cu BC cu localizare colonică [12]. Noi am avut 22,2% (2/9) pacienți cu BC cu afectare colonică, datele noastre fiind în concordanță cu datele din literatură. Determinarea combinată a pANCA și ASCA ar putea fi utilă în diferențierea CU de BC la pacienții cu BII. La pacienții cu CU patternul asociat a fost ASCA-/pANCA+, în timp ce în BC patternul asociat a fost ASCA+/pANCA-. Determinarea combinată a pANCA și ASCA a avut o specificitate mai înaltă (>90% în majoritatea studiilor, și > 80% în studiul nostru) în diferențierea BC de CU în comparație cu determinările separate a pANCA sau ASCA. La pacienții cu BII, valoarea predictiv pozitivă (PPV) a combinației testului pozitiv pentru ASCA cu test negativ pentru pANCA pentru pacienții cu

CU a fost raportată a fi 92,5% de către Quinton et al. [9], 95% de către Peeters et al [13] și 77% de către Koutrobakis et al [12]. Valoarea predictiv pozitivă (PPV) plasează specificitatea testului în contextul prevalenței afecțiunii și indică ce procentaj de pacienți cu valori pozitive ale testelor, au în fapt afecțiunea la momentul dat. Datele noastre pentru specificitate și sensibilitate sunt în concordanță cu datele din literatură.

În consecință, determinarea combinată a rezultatelor pANCA și ASCA ar putea fi de ajutor în combinație cu utilizarea tehnicilor convenționale (anamneza pacienților, examenul radiologic, endoscopia și biopsiile) în diferențierea diagnosticului dintre CU și BC.

**CONCLUZII:** testarea pentru pANCA, ASCA și pentru alți anticorpi pare a fi o abordare pe viitor în diagnosticarea bolilor inflamatorii intestinale, și pentru diferențierea CU de BC. Evaluarea serologică a pANCA și ASCA ar putea fi utilă la pacienții cu colită nedeterminată. La acești pacienți, stabilirea precoce a diagnosticului exact ar putea avea importanță clinică în luarea deciziilor terapeutice și în stabilirea prognosticului bolii. Combinația pANCA+/ASCA- a prezis CU în 57,1% din cazurile cu IC, în timp ce combinația pANCA-/ASCA+ a prezis BC în 42,8% din pacienți. Circa 64,27% dintre pacienți nu au avut anticorpi nici față de ASCA și nici față de pANCA, iar acești pacienți seronegativi au rămas cu diagnosticul de colită nedeterminată.

Utilizarea rezultatelor testelor, prin determinări combinate a pANCA și ASCA, afectează probabilitatea pretest-posttest în diferențierea CU de BC la pacienții cu BII. Acest lucru ar putea fi de ajutor la pacienții la care diferențierea dintre CU și BC nu este evidentă prin metodele clasice de diagnostic.

**Bibliografie:**

- STEPHAN, R., TARGAN, Fergus Shanahan, KARP, Loren C.- *Inflammatory Bowel Disease. Translating basic science into clinical practice.* A John Wiley&Sons, Ltd., Publication, 4-5, 2010,
- REESE, GE., CONSTANTINIDES, V.A., SIMILLIS, C., et al.-*Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease.* 101: 2410-2422, AM J Gastroenterology, 2006,
- LICHTENSTEIN, Gary-Clinical focus - *Challenges in the Diagnosis of Ulcerative Colitis and Crohn's disease.* Medscape education, 2006,
- BOSSUYT, X.-*Serologic markers in inflammatory bowel disease.* 52:171-181. Clin Chem, 2006,
- BlueCross BlueShield Association, Technology Evaluation Center. - *Serum antibodies for the diagnosis of inflammatory bowel disease:ANCA for ulcerative colitis and ASCA for Crohn's disease.* 18-20, Jun, Technological MAP Suppl., 1999,
- MacDERMOTT, R.P.-*Lack of current clinical value of serological testing in the evaluation of patients with IBD.* 5(1): 64-67, Inflammatory Bowel Disease, 1999,
- NAKAMURA, R.M., MATSUTANI, M., BARRY, M.-*Acces in clinical laboratory tests for inflammatory bowel disease.*; 335: 9-20; Clin Chim Acta, 2003,
- RUEMMELE, F.M., TARGAN, S.R., LEVY, G. et al.-*Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric.* Inflammatory bowel disease; 115: 822-9, Gastroenterology, 1998,
- QUINTON, J.F., SENDID, B. REUMAUX, D. et al.-*Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role.* 42: 788-791; Gut, 1998,
- HOFFENBERG, E.J., FIDANZA, S., SAUAIA, A.-*Serologic testing for inflammatory bowel disease.* J Pediatr; 134: 447-52, 1999,
- VASILIAUSKAS, E.A., PLEVY, SE., LANDERS, C.J. et al.-*Perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup.*; 110:1810-9, Gastroenterology, 1996,
- KOUTROBASKIS, I.E., PETINAKI, E., MOUZAS, I.A., et al.-*Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in Greek patients with inflammatory bowel disease.*; 96(2): 449-54., Am J Gastroenterol, 2001,
- PETERS, M., JOOSSENS, S., VERMEIRE, S., VLIETINCK, R., BOSSUYT, X., RUTGEERTS, P.-*Diagnostic value of anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease.*; 96:730-4, Am J Gastroenterology, 2001.